Aus der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. L. Felix Müller

UNTERSUCHUNGEN ÜBER BLUTPLASMAKONZENTRATIONEN DES LANGZEITSULFONAMIDS Ro 4 - 4393

(4-Sulfanilamido-5, 6-dimethoxypyrimidin)

BEIM HUND

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Ruth Gerriets geb. Neuling
Tierärztin aus Berlin

Berlin 1965
Journal-Nr. 494

Druck:
ERNST-REUTER-GESELLSCHAFT
der Förderer und Freunde der Freien Universität Berlin e.V.
DISSERTATIONS-DRUCKSTELLE
1 Berlin 33, Garystr. 45

Aus der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. L. Felix Müller

UNTERSUCHUNGEN ÜBER BLUTPLASMAKONZENTRATIONEN DES LANGZEITSULFONAMIDS Ro 4 - 4393

(4-Sulfanilamido-5, 6-dimethoxypyrimidin)

BEIM HUND

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Ruth Gerriets geb. Neuling
Tierärztin aus Berlin

Berlin 1965
Journal-Nr. 494

Gedruckt mit der Genehmigung der Veterinärmedizinischen
Fakultät der Freien Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. J. Boch
Referent: Priv. -Doz. Dr. Ellen Lettow
Korreferent: Prof. Dr. L. F. Müller

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

Tag der Promotion: 24. II. 65

Dem ehrenden Andenken

an meinen Vater,

den Fabrikanten Paul Neuling,
Handelsbeirat in Berlin,

und meinen Schwiegervater,

den Min.-Dirigenten a. D., o. Prof. Dr. phil.,
Dr. agr. h. c., Dr. med. vet. h. c. Jan Gerriets,

gewidmet.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547201_0026

Inhaltsübersicht

	Seite
A Einleitung	7
B Langzeitsulfonamide	9
C Das Langzeitsulfonamid Ro 4-4393	15
1. Chemie und Löslichkeit	
2. Toxizität	
a) akute Toxizität	
b) Verträglichkeitsversuche bei länger dauernder Verwendung	16
3. Antibakterielle Wirkung	17
4. Erfahrungen mit Ro 4-4393	19
a) Beim Menschen	
b) Beim Tier	
5. Richtdosis	20
D Eigene Untersuchungen	21
1. Tiermaterial und technische Durchführung	
a) Tiermaterial	
b) Applikationsart	
c) Zeitpunkt und Art der Blutabnahme	
d) Plasma- und Vollblutmessung	
2. Methode	23
a) Plasma - Vollblutbestimmung	
b) Direkt reagierendes Sulfonamid - "freies" Sulfonamid	
c) Methode zur Bestimmung des Gehalts an "freiem" = direkt reagierendem Sulfonamid im Plasma und Vollblut	24
α) Prinzip der Methode	
β) Erforderliche Reagentien	
γ) Ausführung der Sulfonamidbestimmung	

Seite

3. Voruntersuchungen 26
   a) Eichkurve 26
   b) Verträglichkeit 29
4. Versuche 29
   a) Vorversuche
   b) Hauptversuche 35
5. Eliminationskonstante und Halbwertzeit 65
6. Gegenüberstellung von Plasma- und Vollblut-konzentration 66

E Diskussion 69

F Zusammenfassung 77

G Literatur 81

A Einleitung

Die von PAUL EHRLICH 1910 mit dem Salvarsan begründete Chemotherapie erhielt in den Jahren 1927 und 1929 zwei ergänzende, markante Eckpfeiler.

1927 gelang es den Chemikern MIETZSCH und KLARER in den Bayer-Laboratorien nach mühseligen Versuchsreihen aus in der Textilfärberei angewendeten Azo-Verbindungen, das Sulfonamid Prontosil rubrum (4-Sulfanilamido-2,4-diaminoazobenzol) darzustellen. Dem Arzt, GERHARD DOMAGK, als seinerzeitigen Leiter der Abteilung für experimentelle Therapie der Bayer-Werke blieb es vorbehalten, die chemotherapeutische Wirksamkeit des Prontosil bei experimenteller Streptokokken-Infektion im Dezember 1932 nachzuweisen. Am Anfang des Jahres 1933 erschien die erste deutschsprachige Mitteilung über die klinischen Erfolge, die eine neue Epoche in der Bekämpfung der Infektionskrankheiten bei Mensch und Tier einleitete.

Zwei Jahre nach der systematischen Strukturanalyse der Sulfonamide machte 1929 in England SIR ARTHUR FLEMING die Zufallsentdeckung des antibiotischen Prinzips bei mit Schimmelpilzen verunreinigten Bakterien-Plattenkulturen. Beide - Sulfonamide und Antibiotika - haben die Therapie zahlreicher infektiöser Erkrankungen bei Mensch und Tier ermöglicht.

Die vornehmlich klinisch-praktischen Erfahrungen haben in der Vergangenheit mitunter zu einer Überbewertung der Antibiotika und einer Unterbewertung der Sulfonamide geführt.

Der primäre Siegeszug der Sulfonamide unterdrückte zunächst die Herstellung der Antibiotika, die, obwohl bereits 1929 entdeckt, erst etwa 12 Jahre später in die Hände der Ärzte gelangten. Dann wurde die Sulfonamid-Aera durch die Penicillin-Aera - so wird noch heute das Zeitalter der Antibiotika von der nichtwissenschaftlichen Welt apostrophiert - abgelöst.

Indessen werden seit einigen Jahren wegen deutlicher Therapie-Versager, unerwünschter Resistenz-Erscheinungen, (es sei nur der gefürchtete Staphylokokken-Hospitalismus angeführt) Allergien, avitaminotischer und anderer Nebenwirkungen der Antibiotika, die bereits als überholt angesehenen Sulfonamide wieder häufiger angewendet. Wesentlich hat dazu die Entwicklung der sog. Depot- oder Langzeit-Sulfonamide beigetragen.

Wenn man die Entwicklung der Sulfonamide übersieht, was einige Schwierigkeiten bereitet, denn bis heute sind etwa 5000 Sulfonamide synthetisiert und teilweise einer klinischen Prüfung unterzogen worden, so lassen sich fünf Phasen herausstellen:

1. In den Jahren 1933 bis 1939 wurde das erste Sulfonamid, das Prontosil, als Wundermittel vornehmlich bei Kokkeninfektionen einge-

führt. Ihm folgten das Sulfanilamid, das Sulfapyridin und das Sulfathiazol. Dieser Gruppe ist gemeinsam, daß die gute antibakterielle Wirksamkeit nur dann gewährleistet ist, wenn in Abständen von wenigen Stunden relativ hohe Dosen appliziert werden, die unerwünschte Nebenwirkungen im Magen-Darmkanal und Harntrakt zur Folge haben können.

2. Die Jahre 1940 bis 1946 brachten die Synthese der sog. optimalen Sulfonamide. Diese waren parenteral gut verträglich und konnten bereits wesentlich niedriger dosiert werden. Zu diesen gehören die Sulfapyrimidine, Sulfadiazine, das Sulfamerazin und das Sulfadimidin.

3. Die dritte Phase bot Präparate zur Bekämpfung bakterieller Infektionen in bestimmten Organen an. Hierzu gehört das 1941 synthetisierte, wegen fast fehlender enteraler Resorption, auch als darmwirksames Sulfonamid bezeichnete Sulfaguanidin. 1946 kam das Sulfioxazol mit besonders guter Konzentration in den Harnwegen hinzu.

4. Die ersten Nachkriegsjahre brachten keine Neuentwicklungen, wohl aber das Prinzip der Sulfaaddition, das besonders für die Pädiatrie von Bedeutung war.
Die Belastung des juvenilen Urogenital-Apparates war beispielsweise durch die Kopplung eines schnell ausgeschiedenen mit einem langsam ausgeschiedenen Sulfonamid, bei optimalem Blutspiegel, unverkennbar herabgesetzt.

5. Mit dem Jahre 1957 begann die Entwicklung der Depot- oder Langzeitsulfonamide. Durch strukturellen Umbau im heterozyklischen Teil der Sulfonamide erhielt man Präparate mit großer Verweildauer im Organismus bei niedriger Dosierung und dadurch bedingter geringerer Toxizität.
Ein solches, dem Madribon (R) verwandtes Präparat, ist das noch nicht im Handel befindliche Langzeitsulfonamid Ro 4-4393 der Firma P. Hoffmann-La Roche A. G., Basel. Bisherige Untersuchungen am Menschen haben gezeigt, daß mit geringen Dosen hohe und langanhaltende Blutspiegel erzeugt werden können.
Mit vorliegenden Untersuchungen sollten die Plasmakonzentrationen beim Hund nach einmaligen und wiederholten Gaben von Ro 4-4393 geprüft werden.

B Langzeitsulfonamide

Bevor auf das Sulfonamid Ro 4-4393 eingegangen wird, sollen einige orientierende Angaben über die Langzeitsulfonamide vorangesetzt werden.

Die Zuordnung eines Sulfonamids zu der Gruppe der Kurz-, Mittel- oder Langzeit-Sulfonamide richtet sich nach den Serumspiegel-Halbwertzeiten. Die Serumspiegel-Halbwertzeit ist nach DOST (10) "die Zeitspanne, innerhalb welcher die Konzentration eines sog. nicht reaktiven Stoffes im Blut und den extravasalen Räumen während der Dauer der reinen Eliminationsphase auf die Hälfte des ursprünglichen Wertes absinkt."
Diese beträgt für Kurzzeit-Sulfonamide (short acting SA) 7 - 10 Stunden, für Mittelzeit-Sulfonamide (medium long acting SA) 10 - 20 Stunden und für Langzeit-Sulfonamide (long acting SA) über 20 Stunden (GSELL (18)).
Zu der letztgenannten Gruppe sind folgende Präparate zu rechnen:

Sulfadimethoxin	= Madribon (R) (Roche)
Sulfamethoxypyrizadin	= Lederkyn (R) Kynex (R) (Lederle)
Sulfamethyldiazin	= Pallidin (R) (Merck)
Sulfamethoxypyrimidin	= Durenat (R) (Bayer und Schering)
Ro 4-4393	= Versuchspräparat (Roche)

Für die Wirksamkeit der Sulfonamide im Organismus im allgemeinen ist eine Reihe von Faktoren wichtig, die WALTER (44) wie folgt einteilt:

a) die antibakterielle Wirksamkeit in vivo und in vitro;

b) die chemisch-physikalischen Eigenschaften wie Löslichkeit, Acetylierungs- und Oxydationsgröße;

c) Grad der Eiweißbindung;

d) pharmakologische Eigenschaften wie Toxizität und Verträglichkeit;

e) Resorptions-, Diffusions- und Ausscheidungsverhältnisse.

a) Die antibakterielle Wirksamkeit der Langzeitsulfonamide hat sich in vitro gegenüber den "klassischen" Sulfonamiden als besser erwiesen.

Bei der in vivo-Prüfung, die sich ja einem objektiven Maßstab stärker entzieht, werden sie im allgemeinen positiv beurteilt, wenn auch von einzelnen Autoren Zurückhaltung geübt wird.

LAGIER und Mitarbeiter (27) haben festgestellt, daß in vivo wie in vitro eine deutliche antibakterielle Aktivität gegenüber Streptokok-

ken, Pneumokokken, Meningokokken, Colibazillen, Proteus vulgaris und Pseudomonas pyocyaneus besteht, dagegen sprachen die übrigen grampositiven und gramnegativen Erreger weniger gut an. Eine Wirksamkeit gegen Salmonellen (S. typhi und S. paratyphi B (Schottmülleri) wiesen FUST und BÖHNI (14) sowie SCHNITZER und DE LORENZO (37) mit höheren Dosen von Sulfonamiden an Mäusen nach.

GSELL (18) betont die überaus günstige antibakterielle Wirksamkeit. Indikationen für die Therapie mit Langzeit-Sulfonamiden sind nach ihm bakterielle Infekte im Respirations- und Urogenitaltrakt, in den Gallenwegen und in der Haut. Ferner finden sie Verwendung in der Prophylaxe bakterieller Infekte, in der Langzeitprophylaxe rheumatischer Erkrankungen und bei speziellen protrahierten Infektionen wie Toxoplasmose (hier in Kombination mit Daraprim (R)), Lepra und Trachom.

WITZGALL (46) beurteilt die Leistungsfähigkeit der Langzeit-Sulfonamide gegenüber den älteren Präparaten wie Sulfadiazin und den Sulfa-Additionspräparaten sehr vorsichtig. Er fand bei den einzelnen Patienten sehr unterschiedliche Glukuronidierungsverhältnisse und nimmt an, daß im Blut ein vielleicht auch wechselnder Anteil an chemotherapeutisch inaktiven Glukuroniden im Plasmaspiegel mitenthalten ist. Er führt aus, daß es somit verständlich ist, wenn bei entscheidenden Indikationen wie Meningitis, Ruhr oder floride Toxoplasmose die Behandlung mit älteren Sulfonamiden mit im Gebrauch geblieben ist. Auch zweifelt er die höhere Wirksamkeit der Langzeit-Sulfonamide gegenüber den älteren Präparaten bei gewöhnlichen Infekten der Harnwege an, zumal die älteren Sulfonamide wesentlich höhere Harnkonzentrationen erreichen, so daß sie bei oberflächlichen Infektionen der Schleimhaut und bei nur mäßig empfindlichen Erregern geeigneter erscheinen.

b) Die Langzeit-Sulfonamide zeichnen sich durch gute Löslichkeit im Urin aus, jedoch in Abhängigkeit vom pH-Wert; sie ist im sauren Milieu günstiger, und bei den einzelnen Präparaten unterschiedlich. Ebenso ist der acetylierte Anteil im Blut und im Urin unterschiedlich für die verschiedenen Präparate sowie für die einzelnen Spezies. Anderen Umwandlungsprodukten im Blut wird nur eine untergeordnete Bedeutung beigemessen. Dabei handelt es sich um Oxydationsprodukte, die nicht frei ausgeschieden, sondern als Sulfate und Glukuronide gekoppelt entgiftet werden. Während für die älteren Präparate nur auf eine Verstoffwechselung in Acetylderivate hingewiesen wurde, treten bei den Langzeit-Sulfonamiden auch Glukuronide als Stoffwechselprodukte in Blut und Urin auf. Beide Formen sowie die Höhe ihres Anteils sind von großer Bedeutung, da sie chemotherapeutisch unwirksam sind (DAVIS (5)).

Von den Langzeit-Sulfonamiden ist bekannt, daß die Quote des acetylierten Anteils geringer ist als bei den herkömmlichen Sulfonamiden. Der Acetylierungsgrad im Blut beträgt für die älteren

Sulfonamide bis zu 30 % (Sulfapyridin), für die langwirkenden 10 - 20 % des Gesamtsulfonamids. Beim Sulfadimethoxin treten als inaktive Formen 10 % Acetylderivat und 6 % Glukuronid auf, während bei Ro 4-4393 die Verhältnisse günstiger liegen; der Acetylierungsgrad beträgt nur 5 % und die Glukuronidbindungsrate 2 - 3 %.

Dem Hund wird die Möglichkeit des Acetylierungsvermögens abgesprochen (MARSHALL (31), WELSH und Mitarbeiter (45)). Da das Acetylderivat im allgemeinen schlechter löslich ist als das Sulfonamid selbst, ist die Gefahr einer Nierenschädigung durch Auskristallisation, wie sie beim Menschen möglich ist, weitgehend ausgeschlossen. Es können aber auch hier Ausnahmen vorkommen, denn BROWN und Mitarbeiter (3) beobachteten beim Hund ein Ansteigen der acetylierten Form bei Vorliegen einer Niereninsuffizienz.

c) Ein Bindungsfähigkeit der Sufonamide an die Serumeiweißkörper ist seit langem bekannt. Früher glaubte man, daß sie nur an die Serumalbumine erfolgt, inzwischen ist auch eine Bindung an die γ-Globuline nachgewiesen. (GARN und KIMBEL (16)).

Die Bedeutung der Eiweißbindung für die therapeutische Wirksamkeit wird nicht einheitlich beurteilt. Früher wurde angenommen, daß eine starke Proteinbindung die Wirksamkeit einschränkt. Es wurde daher gefordert, daß die Sulfonamide keine zu starke Eiweißbindung aufweisen sollten. Bei Prüfung der Langzeit-Sulfonamide hat sich aber herausgestellt, daß gerade hier die Eiweißbindung besonders stark ist. WÖHLER und SPECKMANN (47) sehen darin die Ursache der lang anhaltenden hohen Blutspiegel im Serum, den sie aber nicht ohne weiteres mit einer guten therapeutischen Wirkung gleichsetzen wollen.

GARN und KIMBEL (16) dagegen erkennen wohl die klinische Überlegenheit der Langzeit-Sulfonamide in der erheblich verlängerten Verweildauer bei nahezu konstantem Blutspiegel an, würden aber doch innerhalb der Depot-Sulfonamide die Verbindung vorziehen, die bei guter bakteriostatischer Wirkung, rascher Resorption und langer Verweildauer die geringere Bindung an Eiweiß aufweist.

Anders beurteilt WITZGALL (46) die starke Bindungsfähigkeit. Er sieht darin eher einen Vorteil, da der therapeutische Plasmaspiegel beträchtlich überhöht wird. Außerdem bietet sie eine Voraussetzung für gutes Diffusionsvermögen durch die Körpermembranen. Die Eiweißbindung als solche bewertet er also als eine wünschenswerte Eigenschaft, jedoch mißt er ihrer Höhe und damit der Höhe der Blutwasserkonzentration keine praktische Bedeutung bei. Zudem haben auch die Eiweißkörper die wichtige Funktion eines Transportmittels der Sulfonamide im Organismus.

KIMBEL und GARN (24) haben eingehende Untersuchungen über Verbleib und Ausscheidung des Depotsulfonamids Sulfamethoxydiazin an Ratten vorgenommen und stellten fest, daß dieses Präparat zu 80 % an Eiweiß gebunden ist. Bei der Verteilung zwischen Blut und Gewebe beeinflußt nach ihren Beobachtungen die Protein-

bindung bei therapeutischen Spiegeln im Blut diese höchstens im positiven Sinne, denn es werden im Gegensatz zu den älteren Sulfonamiden höhere Verteilungsvolumina und damit günstigere Verhältnisse zwischen der Konzentration im Plasma und in den Geweben gefunden. Auch wird ein Konzentrationsausgleich zwischen den einzelnen Gewebsabschnitten untereinander und dem Blut nicht im negativen Sinne beeinträchtigt; das Präparat kann also trotz seiner hohen Proteinbindung schnell an den Wirkungsort gelangen.

Das Bindungsvermögen verschiedener Tierseren für verschiedene Sulfonamide differiert außerordentlich stark (Tabelle 1) und ist zusätzlich noch abhängig vom Alter und Zustand des Serums. Deshalb kann die Eiweißbindung nicht einheitlich beurteilt werden und nicht unbedingt für die therapeutische Wirkung ausschlaggebend sein.

Zunahme des Eiweißbindungsvermögens	Sulfadiazin (Debenal (R) (Pyrimal (R))	2-Sulfanilamido-5-methoxypyridin (Durenat (R))	Sulfadimethoxin (Madribon (R))
1	Maus	Rind	Maus
2	Hund	Hund	Ratte
3	Rind	Ratte	Hund
4	Kaninchen	Maus	Rind
5	Ratte	Mensch	Kaninchen
6	Mensch	Kaninchen	Mensch

Tab. 1: Zunahme des Eiweißbindungsvermögens für verschiedene Sulfonamide bei verschiedenen Spezies nach SCHOLTAN (39).

d) Es besteht die Möglichkeit einer Schädigung durch Sulfonamide. Diese kann sich erstrecken auf

1. den Harntrakt durch Ausfällen von Kristallen und dadurch hervorgerufene Kristallurie.
2. das Blut. Es kann zu Methaemoglobinbildung kommen, deren Folge eine Zyanose ist. Die bei manchen Sulfonamidintoxikationen zu beobachtenden Heinzschen Innenkörper sind Ausfällungen von Haemoglobin und von Eiweißkörpern des Zellstromas. Diese Erythrocyten sind minderwertig und werden vorzeitig eliminiert, wodurch eine Anaemie zustande kommt (STOBBE (41)). Ferner besteht die Gefahr einer Leukopenie und Agranulocytose.
3. den Magen-Darmtrakt. Eine Unverträglichkeit von Sulfonamiden kann Erbrechen und Übelkeit hervorrufen.

4. Allergien.
   Die hier aufgeführten Formen einer Schädigung durch Sulfonamide sind bei Anwendung der Langzeit-Sulfonamide, bedingt durch die niedrige Dosierung und langsame Ausscheidung, äußerst gering und spielen kaum eine Rolle.

e) Die Verteilung der Sulfonamide im Gewebe ist zur Beurteilung ihrer Wirksamkeit von größerer Bedeutung als ihre Konzentration im Blut. Da bis heute aber Gewebskonzentrationsmessungen am Patienten sehr schwierig sind und daher kaum durchgeführt werden können, kann über die einzelnen Sulfonamide und ihre Gewebsaffinität noch nicht viel ausgesagt werden.

EGGER (13) hat aufgrund von Blut- und Gewebskonzentrationsbestimmungen nach intravenöser Verabreichung eines Sulfonamids bei gynäkologischen Operationen beim Menschen festgestellt, daß unter normalen Verhältnissen der Verteilungsquotient für ein bestimmtes Gewebe einen konstanten Wert besitzt. Zu jeder Blutkonzentration gehört eine bestimmte charakteristische Gewebskonzentration. Die in den Organen erzielten Gewebskonzentrationen liegen im allgemeinen niedriger als die entsprechenden Blutspiegel; nach DOMAGK (8) beträgt der Gewebsspiegel nur 30 - 80 % des Blutspiegels. Eine Speicherung von Sulfonamid oder eine Retention findet auch nach protrahierter Gabe von hohen Sulfonamiddosen nicht statt. Zwischen Blut- und Gewebsspiegel besteht ein Gleichgewicht, indem sich beide gleichlinig ändern.

Zur Beurteilung der Verteilung der einzelnen Sulfonamide im Gewebe muß das sog. relative Verteilungsvolumen berechnet werden. Dies besagt, bei 0,1 d. h. 10 %, daß ein Stoff die Blutbahn nicht verläßt, da das Blutvolumen etwa 8 % des Körpervolumens ausmacht, bei 30 %, daß die Substanz auch in der extrazellulären Flüssigkeit liegt und über 30 %, daß sie in die Zellen eindringt (GSELL (18)).

Der Gehalt des Plasmas an freiem, d. h. weder eiweißgebundenem noch metabolisiertem Sulfonamid ist nach DETTLI (7) für den Wirkungsgrad maßgebend und nicht der unterschiedliche Sulfonamidgehalt der verschiedenen Organe, da er dem Gehalt an freiem, daher wirksamen Sulfonamid in der interstitiellen Flüssigkeit entspreche. Der Wert der Blutkonzentrationen ist für eine Beurteilung der therapeutischen Wirksamkeit umstritten, aber er kann Hinweise auf Resorption und Ausscheidungsverhältnis geben.

Im Gegensatz zu den herkömmlichen Sulfonamiden zeichnen sich die Langzeit-Sulfonamide durch langsame Elimination aus dem Blut aus, die anhand der Halbwertzeit nach DOST (10) bewertet wird. Diese beträgt für Ro 4-4393 100 - 200 Stunden für den Menschen, im Gegensatz zum Sulfadimethoxin (Madribon (R)), für das 30 - 35 Stunden angegeben werden, und zum Sulfadiazin, dessen Halbwertzeit 18 Stunden beträgt.

Die Elimination der Sulfonamide erfolgt vorwiegend durch die Nieren. Im Urin finden sich nach 24 Stunden ca 8 % von Ro 4-4393 beim Menschen, während von Sulfadimethoxin in derselben Zeiteinteilung 26 % ausgeschieden werden. Das hängt mit der niedrigen Nierenclearance dieser Sulfonamide zusammen. Durch diese verzögerte Ausscheidung erklärt sich auch die gute Verträglichkeit der Langzeit-Sulfonamide, da eine Gefahr der Kristallurie kaum gegeben ist, weil es in den Glomeruli niemals zu hohen Konzentrationen kommt.

Außer im Harn sind Sulfonamide in den Sekreten und Exkreten des Verdauungstraktes gefunden worden, wie im Stuhl, Magensaft, Pankreassaft, Speichel und in der Galle. Daneben sind sie auch in geringen Mengen in der Milch, im Cervixsekret und im Sperma nachgewiesen worden.

Durch die langsame Ausscheidung bedingt, ist bei den Langzeit-Sulfonamiden der Neigung zur Kumulation eine größere Bedeutung zuzumessen, sie kann als Ursache von toxischen Zwischenfällen angesehen werden. KRÜGER-THIEMER und BÜNGER (26) haben eingehende Untersuchungen an Sulfanilamiden angestellt und kamen zu dem Schluß, daß eine Kumulation ähnlich wie bei Digitalis-Glykosiden stets auf falscher Dosierung beruht. Demzufolge ist jede Kumulation vermeidbar.

Wesentlich bei der Dosierung der Langzeit-Sulfonamide ist, daß folgende 3 Größen aufeinander abgestimmt werden müssen:

Dosisverhältnis - Initialdosis zu Erhaltunsdosis - (ID-ED)

Dosierungsintervall (Zeit)

relative Erhaltunsdosis (mg/kg Kgw.)

Eine Kumulation wird nicht allein durch unsachgemäße Dosierung hervorgerufen, sondern ist auch begründet durch ein falsch gewähltes Dosisintervall und unrichtiges Verhältnis der Initialdosis zur Erhaltungsdosis.

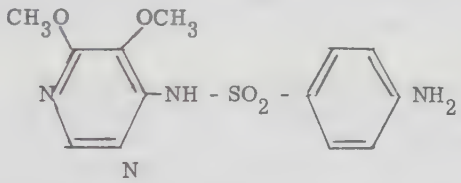
Unter klinischen Bedingungen läßt sich durch die Kontrolle der Blutkonzentration eine Kumulation vermeiden. Für den unter Praxisverhältnissen Tätigen wird es nicht zu derartigen Erscheinungen führen, wenn er sich an die vorgeschriebenen Dosen und Dosierungsintervalle für das entsprechende Sulfonamid hält.

C Das Langzeit-Sulfonamid Ro 4-4393

Die nachfolgenden Ausführungen basieren auf den Unterlagen, die die Forschungsabteilung der Firma F. Hoffmann-La Roche & Co., A. G., Basel/Schweiz (21) zur Verfügung gestellt hat.

1. Chemie und Löslichkeit:

Das Chemotherapeutikum Ro 4-4393 enthält als Wirkstoff ein dem Madribon (R) (Roche) verwandtes Sulfanilamid der Diazinreihe.



4-Sulfanilamido-5, 6-dimethoxypyrimidin

Es ist eine geruchlose, weiße, kristalline Substanz mit einem Schmelzpunkt von 197 - 199° C.
Die Löslichkeit von Ro 4-4393 bei 37° C in Pufferlösungen beträgt bei pH 5, 6 und 7 : 24 bzw. 316 mg%. Die entsprechenden Werte für die N^4-Acetylverbindung betragen 20, 84 und 677 mg%. Im menschlichen Urin hat Ro 4-4393 bei 37° C bei pH 5, 6 und 7 eine Löslichkeit von 21 bzw. 48 bzw. 335 mg%, während für die N^4-Acetylverbindung 23 bzw. 105 bzw. ca. 950 mg% ermittelt wurden.

2. Toxizität:

a) Akute Toxizität: In Tabelle 2 sind die Werte für die LD_{50} bei der Maus im Vergleich zu Sulfadiazin und Sulfamethazin angegeben:

	Ro 4-4393	Sulfadiazin	Sulfamethazin
LD_{50} oral (Maus)	5000 mg/kg	1800 - 2000 mg/kg	1900 mg/kg

Tabelle 2

An der weißen Maus ist danach Sulfadiazin 2, 5 bis 2, 7 mal, Sulfamethazin 2, 6 mal toxischer als Ro 4-4393.

b) Verträglichkeitsversuche bei länger dauernder Anwendung:

Wachsende Ratten, eingeteilt in drei Gruppen von je 8 männlichen Tieren, erhielten mit der Schlundsonde während 6 Wochen an je 5 Wochentagen 250, 1000 und 5000 mg/kg pro Tag. Während 250 mg/kg (= 10-fache therapeutische Initialdosis) bei normalem Gewichtsanstieg keine Nebenerscheinungen bewirkten, blieben die mit 1000 mg/kg behandelten Tiere gegenüber den in gleicher Weise mit physiologischer Kochsalzlösung behandelten Kontrollen im Wachstum um ca. 40 % zurück. Ein Tier überlebte den Versuch nicht. Unter den 8 Tieren, die 5000 mg/kg pro Tag erhielten, überlebte keines den Versuch.

Hämoglobin und Hämatokritwerte, Leukozyten-, Reticulozyten- und Thrombozytenzahlen zeigten bei Versuchsabschluß weder unter 250 noch unter 1000 mg/kg Ro 4-4393 Abweichungen von der Norm.

Harnuntersuchungen nach der dritten und sechsten Versuchswoche ergaben in allen Gruppen höchstens Spuren von Eiweiß. Im Urinsediment der Versuchs- und der Kontrollgruppen befanden sich nur vereinzelt Epithelzellen, Leukozyten und Erythrozyten. Bei der histologischen Untersuchung ließen sich in Leber und Nieren der Ratten, welche 250 oder 1000 mg/kg Ro 4-4393 erhalten hatten, keine Veränderungen nachweisen. Bei den vorzeitig eingegangenen Tieren befanden sich in der Leber einzelne Schädigungen mit reaktiver Hyperplasie des Reticuloendothels. In den Nieren ließen sich vitale und postmortale Veränderungen nicht auseinander halten. Bei den polarisationsmikroskopischen Untersuchungen gefriergetrockneter Nieren konnten keine Kristallbildungen nachgewiesen werden. Lunge und Herz waren nicht verändert.

Zwei Hunde erhielten täglich 100 mg/kg Ro 4-4393 in Gelatinekapseln oral während 36 Tagen. Die Dosis bewirkte während der Versuchsdauer keine signifikante Beeinflussung des Körpergewichtes, des Hämoglobins, des Hämatokritwertes, der Blutsenkungsgeschwindigkeit und der Leukozyten. Auch die verschiedenen Leber- und Nierenfunktionsproben blieben normal. Die histologischen Untersuchungen von Herz, Lunge, Milz, Leber, Nieren, Nebennieren, Pankreas, Verdauungstrakt, Ovarien, Uterus und Knochenmark zeigten keine pathologischen Befunde. Lediglich bei einem Tier war eine leichte Stimulierung des Drüsenepithels der Thyreoidea festzustellen.

An mit Aprobarbital (Numal Roche (R)) narkotisierten Katzen übte eine einmalige mit der Schlundsonde verabreichte Gabe von 1000 mg/kg Ro 4-4393 keinen nennenswerten steigenden Einfluß auf den Blutdruck aus. Die Durchblutung der A. carotis und A. femoralis blieb unverändert.

3. Antibakterielle Wirkung:

Neuerdings soll die Bewertung der chemotherapeutischen Wirkung von Sulfanilamiden gemäß internationaler Übereinkunft (Internationales Symposion über Chemotherapie in Neapel vom 14. - 17. 9. 1961) stets im Vergleich zu Sulfadiazin als Standard vorgenommen werden. Beurteilt nach der CD_{50}, ist Ro 4-4393 bei den in nachfolgender Tabelle aufgeführten Infektionen der Maus bzw. Ratte dem erwähnten Standardsulfonamid (Sulfadiazin) um das 1,2 - 4,6-fache und den beiden anderen Sulfanilamiden (Sulfamethazin; Sulfamethoxydiazin) z. T. um das 2,3 bis über 10-fache überlegen. Besonders deutliche Überlegenheit ergibt sich gegenüber dem Sulfamethazin bei Staphylokokken- und Salmonelleninfektionen.

Infektionserreger	Ro 4-4393	Sulfadiazin	Relation Sulfadiazin/ Ro 4-4393	Sulfa-methazin	Relation Sulfa-methazin/ Ro 4-4393	Sulfa-methoxy-diazin	Relation Sulfamethoxy-diazin/ Ro 4-4393
Staph. aureus Schoch (Ratte, Nephritis)	3	6,9	2,3	31	10,3	11,5	3,8
Diplococcus pneumoniae Typus I (Maus, Sepsis)	31	131,5	4,2	117	3,8	125	4,03
E. coli 1346 (Maus, Sepsis)	2,75	3,2	1,2	7,8	2,8	6,4	2,3
Salmonella thyphi murium (Maus, Sepsis)	75	344	4,6	500	6,7	334	4,5

Tab. 3: Im Tierexperiment ermittelte chemotherapeutische Aktivität (CD_{50} mg/kg) von Sulfonamid Ro 4-4393 im Vergleich zum Standard-Präparat Sulfadiazin und zwei weiteren Sulfanilamiden (Sulfamethazin, Sulfamethoxydiazin (Durenat (R)).

+) CD_{50} = Curative Dosis 50 ist die Dosis, die bei der Hälfte der Tiere eine gesetzte Infektion unterdrückt. Berechnung nach REED und MUENCH (34). Die Versuche erfolgten nach den 1962 von FUST und BÖHNI (15) mitgeteilten Methoden.

4. Erfahrungen mit Ro 4-4393

a) Beim Menschen

Ro 4-4393 wurde in 1208 Fällen von BÜNGER und Mitarbeitern (3a) beim Menschen bei verschiedenen Infektionskrankheiten benutzt. Es wurde bei folgenden Erkrankungen ein Behandlungsversuch unternommen:

Erkrankungen des Respirationstraktes
Erkrankungen der Harnwege
Erkrankungen des Intestinaltraktes und der Gallenwege und bakterielle Hauterkrankungen.

Von den behandelten Patienten sprachen 64 % auf die Therapie gut an, 12 % mäßig und 24 % blieben unbeeinflußt. Die Dosis betrug in den meisten Fällen 1 g als Initialdosis und 200 mg an den folgenden Tagen. Auch GSELL (18) hat in derselben Form dosiert: eine hohe Initialdosis von 1 g innerhalb 4 Stunden, dann täglich 200 mg über viele Wochen. Über 100 Tage konnte so ein Blutspiegel von 12 - 18 mg % erreicht werden. Bei einer einwöchigen Gabe lag der Blutspiegel nach 7 Tagen noch zwischen 3 und 7 mg%. Nebenwirkungen traten kaum auf, sie lagen zwischen 1 und 2 %.
Bei einem Patienten mit chronischer Uraemie konnte GSELL (18) eine Tendenz zur Kumulation nachweisen.

b) Beim Tier

Orientierende Versuche in der Veterinärmedizin wurden an über 750 Pferden, Rindern, Schweinen, Schafen, Ziegen, Hunden und Katzen durchgeführt. Geprüft wurde Ro 4-4393 bei folgenden Indikationen:

Aufzuchtkrankheiten der Jungtiere mit bakterieller Genese, sowie bei bakt. Sekundärerkrankungen während und nach Virusinfektionen
Coccidiosis der Rinder
Dermatitiden
Furunkulose, Abszesse
Infektionen der Atemwege, wie z. B. Pneumonie, Tonsillitis etc.
Infektionen des Magen-Darm-Kanals
Infektionen des Urogenitalsystems, wie Mastitis, Nephritis, Pyelitis
Infektionsschutz in der Chirurgie, bei der Anwendung von Kortikosteroiden etc.
Kälberdiphtherie
Mastitis mit Allgemeininfektion
Panaritium
Phlegmonen
Puerperalinfektionen
Rauschbrand

Rotlauf
Salmonellosen
Wundinfektionen

Die Ergebnisse der Prüfung wurden laufend mit einem Computer ausgewertet und dabei die Optimaldosierung ermittelt.

5. Richtdosis: F. Hoffmann- La Roche schlägt folgende Dosen für alle Haustierarten vor:

Initialdosis	25 - 30 mg/kg Kgw.
Erhaltungsdosis bei Hunden	10 - 15 mg/kg Kgw.
	10 - 15 mg/kg Kgw., die an jedem 5. Tag gegeben werden sollte.

Die Initialdosis sollte möglichst injiziert werden (i.v., i.m., s.c.). Die Erhaltungsdosis kann per os oder parenteral verabfolgt werden.

Bei Bedarf können die Dosen bedenkenlos bis auf 100 mg/kg Kgw. und mehr erhöht werden.

D Eigene Untersuchungen

1. Technische Durchführung

a) Tiermaterial

Die Sulfonamidblutspiegelmessungen wurden an 35 überwiegend klinisch gesunden Hunden verschiedener Rasse und unterschiedlichen Geschlechts, Alters und Gewichts, wie aus der Tabelle 4 hervorgeht, durchgeführt (Tab. 4). Die Tiere standen in der Klinik für kleine Haustiere der Freien Universität Berlin und meiner Privat-Tierklinik zur Verfügung.

b) Applikationsart

Die Applikation des Chemotherapeutikums wurde nüchtern vorgenommen. Sie erfolgte parenteral, intravenös und subcutan, mit einer 25 %igen Lösung, sowie peroral mit Tabletten zu 200 und 500 mg.

c) Zeitpunkt und Art der Blutabnahme

Die Blutabnahme erfolgte bei orientierenden Vorversuchen frühestens nach 5 und 10 Minuten post inj., sonst innerhalb der ersten 12 Stunden bei den einzelnen Versuchsgruppen zu verschiedenen Zeitpunkten und dann fortlaufend alle 12 bzw. 24 Stunden. Im Falle einer Nachdosierung fand die Probeentnahme regelmäßig unmittelbar vor dieser statt. Sie geschah durch Punktion der Vena cephalica antebrachii oder Vena saphena.

d) Plasma- und Vollblutmessung

Bei 503 Blutspiegelmessungen wurde in 471 Fällen die Plasmakonzentration bestimmt und in 32 Fällen die Vollblutkonzentration.

Von allen Blutproben wurden jeweils Doppelbestimmungen angesetzt. Proben, die nicht sofort nach Entnahme zur Verarbeitung kamen, konnten bei - 20^{o} C eingefroren aufbewahrt werden.

Lfd. Nr.	Rasse	Geschl.	Alter	Gew. kg	Diagnose
1	Spitzbastard	männl.	14 J.	19	Conj. purul., Ekzem
2	Dogge	männl.	4 J.	53	Interdigitale Furunkulose
3	Schäferhund	weibl.	5 1/2 Mon.	9,5	klinisch gesund
4	Boxer	weibl.	9 Mon.	15	klinisch gesund
5	Boxer	männl.	4 Mon.	15	klinisch gesund Kupieren der Ohren
6	Cocker-Spaniel-Bastard	männl.	13 J.	18	klinisch gesund
7	Boxer	männl.	8 J.	30	Fremdkörperoperation
8	Chow-Chow-Bastard	weibl.	1 J.	12	klinisch gesund
9	Riesenschnauzer-Bastard	männl.	2 J.	36	klinisch gesund
10	Schäferhund	weibl.	11 Mon.	28	klinisch gesund
11	Foxterrier	männl.	11 Mon.	12	klinisch gesund
12	Schäferhund	weibl.	5 Mon.	17	klinisch gesund
13	Schäferhund	weibl.	11 Wo.	10	Femurfraktur
14	Vorstehhund	männl.	13 J.	30	klinisch gesund
15	Vorstehhund	männl.	12 J.	26	klinisch gesund
16	Rottweiler	männl.	4 J.	46	Femurfraktur
17	Schäferhund	männl.	1 J.	31	Hüftgelenksluxation
18	Schäferhund	weibl.	12 J.	29	klinisch gesund
19	Schäferhund-Bastard	weibl.	9 J.	33	klinisch gesund
20	Dogge	männl.	4 J.	53	Interdigitale Furunkulose
21	Bedlington	männl.	11 Mon.	8	Verkürzung der Achillessehne nach Biß
22	Barsoi	männl.	5 Mon.	22	Fraktur
23	Airedale-Terr.	männl.	12 J.	31	klinisch gesund
24	Airedale-Terr.	männl.	3 J.	28	Tonsillitis
25	Dogge	weibl.	6 Mon.	26	Femurfraktur
26	Boxer	männl.	9 J.	32	Cornea-Erosion (Abrasio)
27	Schäferhund	männl.	3 1/2 J.	33,5	Olecranonfraktur
28	Schäferhund	weibl.	1 1/2 J.	29	chron. pustul. Ekzem
29	Schäferhund	weibl.	1 J.	36	Analekzem
30	Pudel	männl.	12 J.	11	klinisch gesund
31	Setter	männl.	8 J.	27	klinisch gesund
32	Setter-Bast.	männl.	8 J.	28	klinisch gesund
33	Schäferhund	männl.	2 J.	29	klinisch gesund
34	Schäferhund	männl.	7 J.	44	Ekzem, Otitis
35	Schäferhund	weibl.	1 1/2 J.	28	klinisch gesund

Tab. 4: Aufstellung der für die Plasmaspiegelmessungen verwendeten Hunde nach Rasse, Geschlecht, Alter, Gewicht und klinischer Diagnose.

2. Methode

a) Plasma-Vollblutbestimmung

Zur genaueren Bestimmung der Sulfonamidkonzentration im Blut wird die Plasmaspiegelmessung der Vollblutspiegelmessung vorgezogen, da ein Teil der Sulfonamide - mit prozentualen Unterschieden - sich an die Erythrocyten bindet und für die vergleichenden Sulfonamidbestimmungen ein möglichst homogenes Untersuchungsmaterial anzustreben ist. Auch lassen sich Sulfonamidbestimmungen im Plasma mit größerer Genauigkeit ausführen und bieten eine höhere Ausbeute. Ähnliches gilt für Bestimmungen im Blutserum.
Hier kann ein Teil des ursprünglich im Plasma vorhandenen Sulfonamids durch Bindung an die Proteine des Koagulums verloren gehen.

Aus den angeführten Gründen schien es zweckmäßig, das Sulfonamid im Plasma zu bestimmen; lediglich in 3 Fällen wurde vergleichend zu den Plasmaspiegelbestimmungen auch die Untersuchung des Vollbluts vorgenommen (s. Kapitel D 6).

b) Direkt reagierendes Sulfonamid - "freies" Sulfonamid

Bevor über die eigenen Untersuchungen berichtet wird, seien einige Bemerkungen über den Begriff "freies Sulfonamid" vorangesetzt, da die ungleichen Auslegungen dieser Bezeichnung Anlaß zu verschiedenen Interpretationen der Meßergebnisse geben kann. Der Begriff "freies Sulfonamid" wird üblicherweise meist in dem Sinne gebraucht, daß darunter diejenigen Fraktionen des in den biologischen Proben enthaltenen gesamten Sulfonamids verstanden werden, die bereits ohne vorherige Hydrolyse-Prozedur oder sonstige chemische Vorbehandlung die Bratton-Marshall-Reaktion ergeben. Wesentlich korrekter wäre es aber, für diese Fraktionen die Bezeichnung "direkt-reagierendes Sulfonamid" zu verwenden, während das Wort "freies" Sulfonamid nicht benutzt werden sollte oder nur apostrophiert. Dann könnte der häufig vorkommende Irrtum ausgeschlossen werden, daß es sich um ungebundenes oder unverändertes Sulfonamid handelt, also Sulfonamid von gleicher chemischer Konstitution wie das dem Patienten zugeführte. Das ist deshalb falsch, weil in Wirklichkeit bei direkter Ausführung der Bratton-Marshall-Methode nicht das unveränderte Sulfonamid allein gemessen wird, sondern grundsätzlich die Summe aus dem unveränderten Sulfonamid sowie sämtlichen aus ihm im Stoffwechsel entstandenen Metaboliten, die noch eine freie, d. h. nicht substituierte aromatische Aminogruppe besitzen. Als solche kommen namentlich ein Glukuronid des betreffenden Sulfonamids, aber auch abgespaltene freie Arylamine, Sulfanilsäure und wohl noch weitere Stoffwechselprodukte in Betracht.

c) Methode zur Bestimmung des Gehaltes an "freiem" = direkt reagierendem Sulfonamid im Plasma und Vollblut

Die Bestimmung des Sulfonamids Ro 4-4393 im Blutplasma erfolgte nach der von der Gruppe Chemische Pharmakologie der Firma F. Hoffmann-La Roche, Basel, empfohlenen Anleitung (22). Diese Methode entspricht weitgehend einer Modifikation des Bratton-Marshall-Verfahrens, das von DRUEY und OESTERHELD (12) beschrieben worden ist.

α) Prinzip der Methode:

Dieses besteht im wesentlichen darin, daß die Sulfonamide durch Behandlung mit Na-Nitrit und Salzsäure in die entsprechende Diazo-Verbindung umgewandelt werden. Nach Zugabe eines geeigneten Kupplungsreagens wird diese dann in einen Farbstoff übergeführt, dessen Konzentration direkt proportional dem Gehalt der Probe an Sulfonamid ist und photometrisch gemessen werden kann.

β) Erforderliche Reagentien:

1. Eine wäßrige Salzsäure-Lösung von geeigneter, d. h. an die zu untersuchenden Sulfonamide angepaßten Konzentration. Sie dient dazu, aus dem nachher zugesetzten Natriumnitrit salpetrige Säure freizumachen und dadurch die Diazotierung der Sulfonamide möglich zu machen. Da das Ro 4-4393 dem "Madribon" chemisch verwandt ist, wurde eine 4-normale HCl-Lösung, wie für "Madribon" angegeben, verwendet.

2. Eine 0,1 %ige Lösung von Natriumnitrit ($NaNO_2$) pro anal. in Aqua dest. Diese Lösung ist wie auch die unter 4. beschriebene bei Zimmertemperatur unbeständig. Sie ist nur während eines Arbeitstages zu verwenden und muß daher täglich neu hergestellt oder bei -16° C eingefroren werden. Nach dem Auftauen in lauwarmem Wasser und erfolgtem leichten Umschwenken nach vollständiger Verflüssigung sind die Lösungen voll gebrauchsfähig.

3. Eine 0,5 %ige Lösung von Sulfaminsäure (NH_2SO_3H) pro anal. in Aqua dest.
Diese dient zur Zerstörung der überschüssigen salpetrigen Säure und ist bei Zimmertemperatur in geschlossenen Gefäßen lange haltbar.

4. Eine 0,1 %ige Lösung von α-Naphthyl-aethylen-diamin-dihydro-chlorid ($C_{12}H_{14}N_2 \cdot 2HCl$) pro anal. in Aqua dest. (Bezugsquelle: F. Hoffmann-La Roche, Basel). Diese Lösung dient als Kupplungsreagens. Über die Haltbarkeit siehe Nr. 2.

5. Liquemin (R) (Hoffmann-La Roche).
Dieses Präparat enthält Heparin und wird daher als Antikoagulans eingesetzt anstelle des Kaliumoxalats, da es das

Blutkörpervolumen weniger verändert, was dann wesentlich ist, wenn auch der Haematokritwert bestimmt werden soll.

6. Eine 20 %ige Lösung von Trichloressigsäure pro anal. in Aqua dest. Diese dient zur Enteiweißung des Blutes und ist bei Zimmertemperatur beständig.

g) Ausführung der Sulfonamidbestimmung im Blutplasma und Vollblut

Nach Venenpunktion wird ca. 5 ml Blut in einem mit dem Antikoagulans Liquemin (R) angefeuchteten Röhrchen aufgefangen und durch leichtes Schwenken das Bilden von Blutgerinnseln verhindert.
Für jede Bestimmung wird eine Doppelprobe angesetzt. Zur Untersuchung im Blutplasma wird die gewonnene Probe bis zur vollständigen Klärung des Plasmas zentrifugiert. Zu je 1,0 ml des durch Zentrifugieren gewonnenen Plasmas werden in einen hitzebeständigen Kolben von ca. 50 ml Inhalt 20 ml Aqua dest. zugegeben. Statt der empfohlenen eingeschliffenen Glasstopfen kam vorteilhaft Aluminiumfolie zur Verwendung, um dadurch ein Herausspringen der Stopfen und eine mögliche Verdampfung beim Kochprozeß, die zwangsläufig zu Fehlresultaten führt, zu vermeiden.
Bei Vollbluntersuchungen werden je 1 ml des durch Liquemin (R) ungerinnbar gemachten Blutes in einen hitzebeständigen Kolben von ca. 50 ml Inhalt und 20 ml Aqua dest. zugegeben. Dann wird unter Vermeidung von Schaumbildung durch Umschwenken bis zum Eintritt der vollen Haemolyse gemischt.

Diese Blut- bzw. Plasmaverdünnungen können vor der Weiterverarbeitung auch längere Zeit bei -20°C eingefroren werden. Bei Temperaturen über 0°C ist zur Vermeidung einer möglichen Bakterien- oder Pilzentwicklung sowie chemischen Veränderung die Aufbewahrung nicht zu empfehlen.
Zur Enteiweißung wird die Flasche mit Blut- bzw. Plasmaverdünnung 4 Minuten in kochendes Wasser gestellt und ohne Abkühlung mit 4,0 ml einer 20%-igen Trichloressigsäure versetzt, wobei der Inhalt bei Plasmaverdünnung eine weiße und bei Vollblutverdünnung eine braune Farbe annimmt, und nach gründlichem Umschwenken und Kippen (dazu empfiehlt es sich, die Glasstopfen aufzusetzen) sogleich, also noch heiß und auf einmal auf einen Rundfilter gegossen.
Das Filtrat wird in einem Erlenmeyer-Kölbchen von 50 ml Inhalt aufgefangen.
Für beide Bestimmungen wird dann unverzüglich wie folgt weiter verfahren:
5 ml des Filtrats werden in ein Reagenzglas pipettiert und mit

a) 0,5 ml einer 4n-HCl-Lösung versetzt, sofort gemischt und ca. 1,5 - 2 Min. stehengelassen, dann erfolgt die Zugabe von

b) 1,0 ml einer 0,1 %igen Na-Nitrit-Lösung in Aqua dest. für die Diazotierung. Sofort gut mischen, dann mindestens 3 Min. warten.

c) Zugabe 1,0 ml einer 0,5 %igen Lösung von Sulfaminsäure in Aqua dest., um das überschüssige Nitrit zu beseitigen. Sofortiges Mischen bis keine Gasblasen mehr entstehen, da sonst beim Übergießen in die Meßküvette erneut Gasblasen erscheinen können, die fest an der Wand der Küvette haften und die Messung stören können. Dann 2 Min. warten.

d) Zugabe von 1,0 ml einer 0,1 %igen Lösung von α-Naphthyl-aethylen-diamin-dihydrochlorid in Aqua dest.
Sofort mischen und wiederholt schütteln. Dann warten bis eine konstant bleibende Intensität des sich bildenden Farbstoffes erreicht ist.

Für die meisten Sulfonamide genügt bei Zimmertemperatur eine Zeit von 12 Min., für Madribon werden 20 Min. angegeben. Für Ro 4-4393 hat sich eine Zeit von 40 - 60 Min. als erforderlich herausgestellt. Während dieser Zeit war der Extinktionswert konstant.

Die photometrische Messung erfolgte mit dem Zeiss-Photometer Elko II" mit dem Filter S 55 m, das einer Wellenlänge von 5[illegible] mμ entspricht, und mit Küvetten von 1 cm Schichtdicke. Als Bezugslösung diente Aqua dest.

3. Voruntersuchungen

a) Eichkurve

Für die Sulfonamid-Blutspiegelbestimmung ist die Aufstellung einer Eichkurve notwendig. Sie erfolgte nach der von der Herstellerfirma herausgegebenen Vorschrift.
50 mg des reinen Sulfonamids in Pulverform werden in einem 100 ml Meßkolben in 1 ml 1,0 normaler wäßriger NaOH-Lösung unter Bewegen vollständig gelöst und dann sofort der Meßkolben mit 0,2 molarem Phosphatpuffer nach Soerensen mit einem pH-Wert von 7,0 bis zur Marke aufgefüllt.
Der Puffer besteht aus 21,78 g Dinatriumphosphat-Dihydrat (= $Na_2HPO - 2H_2O$) pro anal. + 10,56 g Monokaliumphosphat (= KH_2PO_4) pro anal. + Aqua dest. ad 1 Liter.

Anhand von verschiedenen Voruntersuchungen konnte festgestellt werden, daß für Ro 4-4393 ein Puffer von pH 7,0 sich als geeignet erwies.
Ein Puffer mit dem pH-Wert 8,0 wie für Madribon angegeben, war ungünstiger. Der pH-Wert des Soerensen-Phosphatpuffer wurde mit dem pH-Meter (Fa. Knick) kontrolliert.

Die Ausgangslösung mit einem Sulfonamidgehalt von 50 mg% wird

dann sofort mit dem Soerensen-Puffer pH 7,0 in der Form weiter verdünnt, so daß Konzentrationsstufen von 50, 40, 30, 25, 20, 15, 10, 5 , 2,5 und 1,25 mg% entstehen.

Folgender Ansatz eignet sich bei Verwendung von Pipetten:

Unverdünnte Ausgangslösung						= 50 mg%
8	ml AL +	2	ml	Soerensen-Puffer		= 40 mg% ZV
6	ml AL +	4	ml	"	"	= 30 mg% ZV
5	ml AL +	5	ml	"	"	= 25 mg% ZV
4	ml AL +	6	ml	"	"	= 20 mg% ZV
3	ml AL +	7	ml	"	"	= 15 mg% ZV
2	ml AL +	8	ml	"	"	= 10 mg% ZV
1	ml AL +	9	ml	"	"	= 5 mg% ZV
1	ml AL +	19	ml	"	"	= 2,5 mg% ZV
0,5	ml AL +	19,5	ml	"	"	= 1,25 mg% ZV

AL = Unverdünnte Ausgangslösung
ZV = Zwischenverdünnung

Nun verdünnt man je 1 ml der "Zwischenverdünnungen" mit Ausnahme der drei obersten (50, 40 und 30 mg%) in mit eingeschliffenen Stopfen verschließbaren, kochbeständigen Glasgefäßen mit je 20 ml Aqua dest. und 4 ml 20 %iger Trichloressigsäure und stellt die Flasche genau 4 Min. in kochendes Wasser. Auf diese Art erhält man eine Serie von "Eichlösungen". Hierbei wurde wiederum Aluminiumfolie verwendet, da die Stopfen durch Überdruck beim Kochprozeß leicht heraussprangen.

Danach werden in Doppelansätzen je 5 ml der "Eichlösungen" in ein Reagenzglas pipettiert und genau wie in der Arbeitsvorschrift für Bestimmung von "freiem" Sulfonamid behandelt. Schließlich werden die ermittelten Extinktionswerte E auf der Ordinate und die zugehörigen Konzentrationen der "Eichlösungen" in mg% auf der Abszisse eines Koordinatensystems aufgetragen. Dann verbindet man die Punkte unter sich mit dem Nullpunkt durch eine Linie. Es wurden aus 5 unabhängig voneinander durchgeführten Meßreihen 5 Eichkurven hergestellt und erst nachdem die Wartezeit statt 20 Min., wie von der Herstellerfirma angegeben, einem Vorschlag von SINELL (40) folgend, auf 40 Min. heraufgesetzt wurde, konnte die für diese Sulfonamidblutspiegelmessung benutzte Eichkurve ermittelt werden.

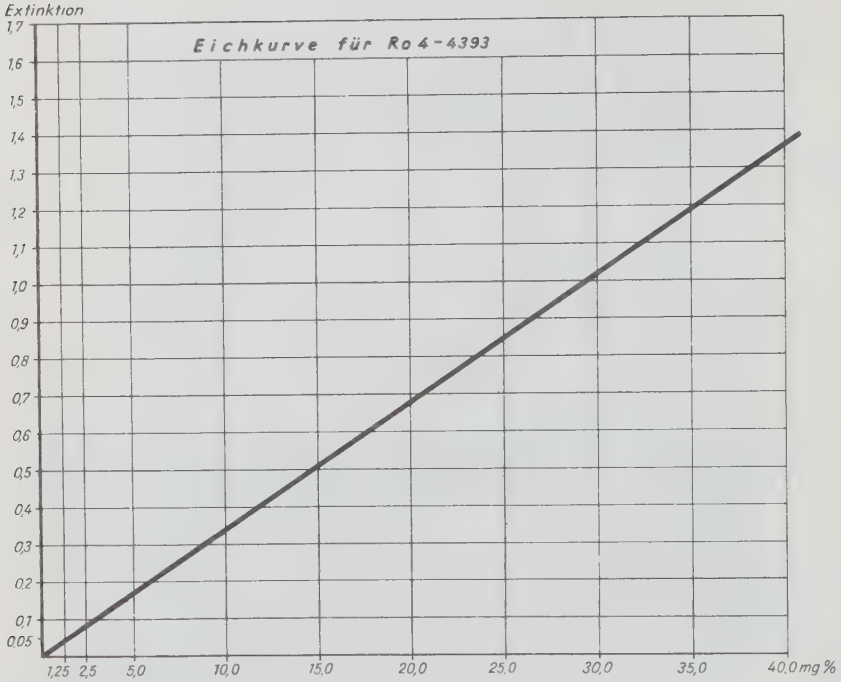


Abb. 1: Eichkurve für Ro 4-4393

b) Verträglichkeit

Die Verträglichkeit war unabhängig von der Applikationsart in jedem Falle ausgezeichnet. Die intravenöse Verabreichung wurde reaktionslos vertragen. Bei 119 subcutanen Injektionen wurden in 2 Fällen lokale Anschwellungen an der Injektionsstelle beobachtet, die aber offensichtlich nicht schmerzhaft waren und binnen kurzem abklangen. Bei der peroralen Verabreichung traten Magen- und Darm-Unverträglichkeiten nicht auf; auch allergische Reaktionen konnten nicht registriert werden.

4. Versuche

a) Vorversuche

Um einen orientierenden Überblick zu erhalten, wie hoch die Sulfonamidkonzentrationen nach einmaliger Gabe ansteigen und wie sie sich im weiteren verhalten, war es unerläßlich, zunächst Vorversuche mit verschieden hohen Dosierungen und unterschiedlicher Applikationsart durchzuführen.

Untersuchungen mit einmaliger Applikation

Zu diesem Zwecke wurden 5 Untersuchungsreihen, nämlich die Gruppen A 1 - 5, angesetzt und wie folgt behandelt:

Gruppe A 1 erhielt 100 mg/kg Kgw. intravenös
Gruppe A 2 erhielt 100 mg/kg Kgw. subcutan
Gruppe A 3 erhielt 50 mg/kg Kgw. subcutan und in einem Fall peroral
Gruppe A 4 erhielt 40 mg/kg Kgw. subcutan
Gruppe A 5 erhielt 30 mg/kg Kgw. subcutan

Gruppe A 1 (Tabelle 5, Abbildung 2)

Drei Hunde (Nr. 1, 2, 3) im Alter von 14 J., 4 J. und 5 1/2 Mon. erhielten je 100 mg Ro 4-4393 pro kg Kgw. i.v. injiziert. Die Blutabnahme erfolgte am 1. Tage nach
5 Min. und 10 Min., nach
2 Std., 4 Std., 8 und 12 Stunden
und in den folgenden 7 - 10 Tagen alle 12 Stunden.
Bei diesen 3 Tieren wurde der höchste Blutspiegel jeweils 10 Min. nach der Injektion ermittelt. Während der 14jährige Hund noch nach 168 Stunden, also am 7. Tag post inj. einen Blutspiegel von 8,2 mg % aufwies, zeigte der 4jährige Hund nach 108 Stunden, d. h. am 5. Tag, nur noch eine Höhe von 4,2 mg%, während er bei dem 5 1/2 Mon. alten Hund bereits nach 72 Stunden auf 4,0 mg% herabgesunken war.

Gruppe A 1

Vers. Hd. Nr.	Alter	1. Tag						
		5 Min.	10 Min.	2 Std.	4 Std.	8 Std.	12 Std.	24 Std.
1	14 J.	40,7	40,8	36,9	34,2	34,6	33,2	30,6
2	4 J.	26,5	27,8	26,4	24,7	24,2	22,3	19,6
3	5 1/2M.		27,2	-	-	-	18,8	15,4

		2. Tag		3. Tag		4. Tag	
		36 Std.	48 Std.	60 Std.	72 Std.	84 Std.	96 Std.
1		29,5	27,2	24,5	22,8	19,0	19,0
2		16,3	15,2	10,9	10,6	7,2	6,3
3		10,3	8,6	5,6	4,0	3,0	2,2

		5. Tag		6. Tag		7. Tag	
		108 Std.	120 Std.	132 Std.	144 Std.	156 Std.	168 Std.
1		15,8	15,4	11,7	11,2	8,4	8,2
2		4,2	3,2	2,4	1,8	1,0	
3		1,2	0,8	0,6	0,4		

Tab. 5: Blutplasmakonzentration in mg% nach einmaliger Gabe von 100 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 intravenös.

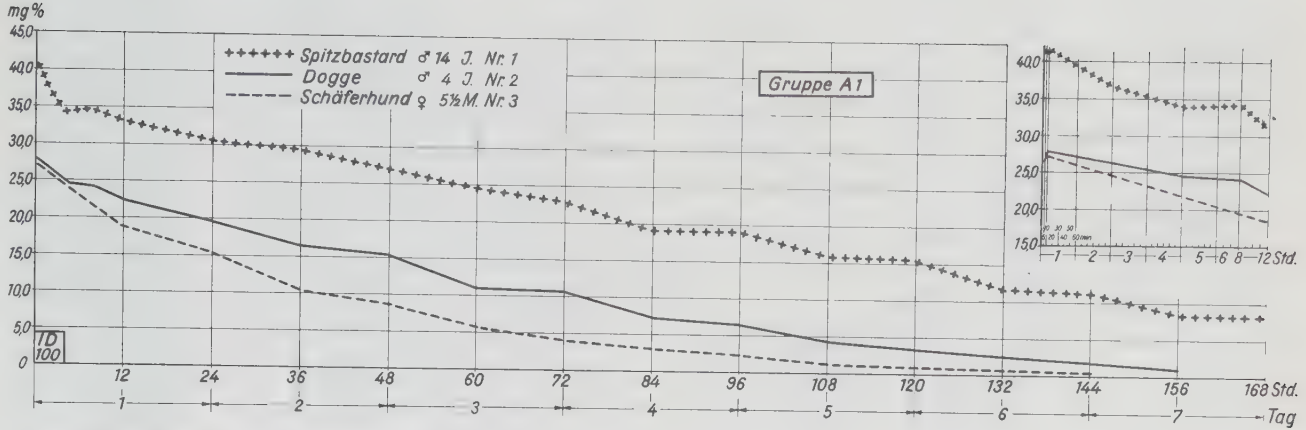


Abb. 2 Verlauf der Plasmaspiegelkonzentration nach einmaliger Gabe von 100 mg Ro 4-4393 i. v.

Gruppe A 2 (Tab. 6)

Um zu ermitteln, wie schnell der Blutspiegel nach subcutaner Injektion im Gegensatz zur intravenösen Injektion seinen höchsten Stand erreicht, erhielten 5 Hunde unterschiedlichen Alters (Nr. 6, 7, 16, 17, 21) eine Dosis von 100 mg/kg Kgw. s. c.

Gruppe A 2

Hd. Nr.	Alter	1. Tag						
		1 Std.	2 Std.	3 Std.	4 Std.	5 Std.	6 Std.	7 Std.
6	13 J.		12,9		22,0		25,8	
7	8 J.	6,8	18,4		21,0			
16	4 J.	8,3	14,5	19,4		22,8		24,0
17	1 J.		13,5		20,0			
21	11 M.		16,5		19,8			

	8 Std.	9 Std.	10 Std.	11 Std.	12 Std.	24 Std.
6					29,5	26,8
7	22,7				22,0	21,4
16				22,4		20,0
17			20,9			19,5
21				12,3		8,6

	2. Tag		3. Tag	
	36 Std.	48 Std.	60 Std.	72 Std.
6	22,2	19,6	19,2	18,1
7	18,0	16,8	14,4	12,8
16		14,2		10,2
17		15,0		10,8
21	5,3	2,0		0,8

Tab. 6: Blutplasmakonzentration in mg% nach einmaliger Gabe von 100 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 subcutan.

Aus den ermittelten Werten ergab sich, daß jeweils bereits mindestens nach 2 Stunden ein Blutspiegel von über 12 mg% erreicht wurde, der zwischen der 7. und 12. Stunde post inj. seinen Höchstwert zeigte, und nach 72 Stunden mit einer Ausnahme noch über 10 mg% lag. Bei Hund Nr. 21 handelte es sich wieder um den jüngsten Hund der Gruppe, einen 11 Mon. alten Bedlington-Terrier, bei dem nach 36 Stunden schon die Konzentration bis auf 5,3 mg% abgesunken war.

Da bei diesen 5 Tieren auch bereits nach 1 - 2 Stunden ein erwünscht hoher Blutspiegel auftrat, scheint es von geringer Bedeutung zu sein, ob die Injektion i.v. oder s.c. vorgenommen wird.

Gruppe A 3 (Tab. 7)

In dieser Gruppe erhielten 8 Hunde (Nr. 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29) 50 mg/kg Kgw., davon 7 subcutan und 1 Tier (Nr. 25) per os. Es wurden die in der Tabelle 7 aufgefundenen Konzentrationen gemessen.

Gruppe A 3

Hd. Nr.	Alter	1. Tag						2. Tag	3. Tag
		1 Std.	2 Std.	4 Std.	10 Std.	12 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
22	5 Mon.	8,3	11,5	12,2		9,5	9,3	5,6	
23	12 J.						11,2	7,3	
24	3 J.						14,8	11,4	
25	6 Mon.						6,6	3,0	
26	9 J.	2,9	6,6	13,9	15,0	15,3	15,8	14,8	12,7
27	3 1/2 J.	5,2	7,6	13,3		12,1	11,2	7,5	4,8
28	1 1/2 J.					7,2	3,4	0,4	0,0
29	1 J.			5,0		4,8	4,0	0,6	0,0

Tab. 7: Blutplasmakonzentration in mg% nach einmaliger Gabe von 50 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 subcutan und per os (Nr. 25).

Die Blutspiegelwerte zeigen, daß die Sulfonamid-Konzentration bei den Hunden Nr. 28 und 29 bereits nach 48 Stunden bis auf 0,4 bzw. 0,6 mg% abgesunken war, während bei 2 weiteren Hunden, Nr. 22 und 25, nach 48 Stunden noch 5,6 mg% und 3 mg% gemessen wurden. Bei diesen 4 Tieren handelt es sich um 2 Hunde unter einem Jahr, einem 1jährigen und einem 1 1/2jährigen. Bei Hund Nr. 25, der dieselbe Menge per os bekommen hatte, enthielt das Plasma nach 48 Stunden 3,0 mg% Sulfonamid.

Gruppe A 4 (Tab. 8)

Bei 4 erwachsenen Hunden (Nr. 30, 31, 32, 33), 12, 8, 8 und 2 Jahre alt, wurden die Blutspiegelwerte nach einer einmaligen Dosis von 40 mg/kg Kgw. ermittelt. Die Applikation erfolgte subcutan. Die Werte sind in Tabelle 8 angegeben.

Gruppe A 4

Hd. Nr.	Alter	1. Tag				2. Tag	3. Tag
		2 Std.	4 Std.	12 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
30	12 J.	11,8	12,4	11,1	8,7	5,8	4,2
31	8 J.	9,0	12,0	12,9	12,7	7,4	5,2
32	8 J.				12,8	8,5	6,0
33	2 J.				15,2	10,8	6,2

Tab. 8: Blutplasmakonzentration in mg% nach einmaliger Gabe von 40 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 subcutan.

Bei diesen Tieren waren nach 72 Stunden, also am 3. Tag noch Blutspiegelwerte von 4,2 - 6,2 mg% zu verzeichnen.

Gruppe A 5 (Tab. 9)

Zwei Tiere, Nr. 34 und 35, - 7 und 1 Jahr alt - erhielten 30 mg/kg Kgw. subcutan. Folgende Werte wurden ermittelt:

Gruppe A 5

Hd. Nr.	Alter	1. Tag					2. Tag	3. Tag
		1 Std.	2 Std.	4 Std.	12 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
34	7 J.	2,9	5,9	8,8	10,0	8,5	6,4	4,2
35	1 J.					5,6	3,4	1,6

Tab. 9: Blutplasmakonzentration in mg% nach einmaliger Gabe von 30 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 subcutan.

Bei dem 7jährigen Tier konnte ein Blutspiegel von 4,2 mg% noch nach 72 Stunden nachgewiesen werden, während er bei dem 1jährigen Hund bereits nach 48 Stunden auf 3,4 mg% abgesunken war.

b) Hauptversuche

Aufgrund der orientierenden Vorversuche mit verschieden hohen einmaligen Gaben von Ro 4-4393 galt es nun, geeignete Dosen zu ermitteln, die einen über mehrere Tage ausreichenden Blutspiegel aufrecht erhalten. Die Fragestellung lautet: wann und in welcher Höhe muß nachdosiert werden?

Die Untersuchungen wurden an 12 Versuchsreihen, den Gruppen B 1-12, zu je 1 - 4 Hunden durchgeführt. Bei 3 Tieren wurden neben den Plasma- noch die Vollblutwerte ermittelt.

Auf die Stundenwerte am 1. Tag wurde verzichtet und nur noch in 12- bzw. 24-stündigem Abstand gemessen. Dabei wurde prinzipiell so verfahren, daß im Fall einer Wiederholungsinjektion die Blutabnahme unmittelbar vor dieser erfolgte.

Die Untersuchungszeit betrug minimal 8, maximal 19 Tage. Das Dosierungsschema und die Gruppeneinteilung weist die nachfolgende Tabelle 10 aus.

Gruppe	Hund lfd.Nr.	Applik.-Art Init.	Applik.-Art Erhaltg.-Dosis	Alter Jahre	Alter Monate	I.D. 1.	Erhaltungsdosis (E.D.) 2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12	13	14	15.	16	17 Tag
B 1	4	s.c.	s.c.		9	100		100		100		100										
	5	s.c.	s.c.		4	100		100		100		100										
B 2	6	s.c.	s.c.	13		100			100			50										
	7	s.c.	s.c.	8		100			100			50			50							
B 3	8	s.c.	s.c.	1		100		70		70		70		70		70						
B 4	9	s.c.	s.c.	2		100			70			70			70							
B 5	10	s.c.	s.c.		11	100		50		50		50		50								
	11	s.c.	s.c.		11	100		50		50		50		50								
	12	s.c.	s.c.		5	100		50		50		50		50								
	13	s.c.	s.c.		11*)	100		50		50		50		50								
B 6	14	s.c.	s.c.	13		100			50			50			50							
	15	s.c.	s.c.	12		100			50			50			50							
	16	s.c.	s.c.	4		100			50			50										
	17	s.c.	s.c.	1		100			50			50										
B 7	18	s.c.	p.o.	12		100			50			50			50							
	19	s.c.	p.o.	9		100			50			50			50							
B 8	20	i.v.	p.o.	4		100				50				50				50				
	21	s.c.	s.c.		11	100				50				50				50				50
	22	s.c.	s.c.		5	100				50				50				50				50
B 9	23	s.c.	s.c.	12		50		50		50												
	24	s.c.	s.c.	3		50		50		50		50		50		50		50				
	25	p.o.	p.o.		6	50		50		50		50		50								
B 10	26	s.c.	s.c.	9		50			50			50										
	27	s.c.	s.c.	3 ½		50			50			50			50			50				
	28	s.c.	s.c.	1 ½		50			50			50			50							
	29	s.c.	s.c.	1		50			50			50										
B 11	30	s.c.	s.c.	12		40			20			20			20			20				
	31	s.c.	s.c.	8		40			20			20			20			20			20	
	32	s.c.	s.c.	8		40			20			20			20							
	33	s.c.	p.o.	2		40			20			20										
B 12	34	s.c.	s.c.	7		30			30													
	35	s.c.	s.c.	1		30			30			30			30							

*) Wochen

Tab. 10: Dosierungsschema für die Gruppen B 1 - 12.

Gruppe B 1 (Tab. 11, Abb. 3)

Zwei junge Hunde, Nr. 4 und 5, - 9 und 4 Monate alt -, erhielten als Initialdosis (ID) 100 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 s.c. und jeweils nach der 48., 72. und 120. Stunde, d. h. also zu Beginn des 3., 5. und 7. Tages eine Erhaltungsdosis (ED) von 100 mg/kg Kgw. s.c. Die Werte lagen erwartungsgemäß sehr hoch.

Gruppe B1

Hd. Nr.	Alter	↓ = Zeitpunkt der Applikation								
		↓1. Tag		2. Tag	↓3. Tag	4. Tag	↓5. Tag	6. Tag	↓7. Tag	8. Tag
		Stunden nach Versuchsbeginn								
		12	24	48	72	96	120	144	168	192
4	9 Mon.	21,8	16,7	9,8	20,4	9,4	16,8	10,0	22,0	14,2
5	4 Mon.	21,4	18,3	13,8	25,0	15,8	26,8	20,8	30,8	23,3

Tab. 11: Blutplasmakonzentration in mg% nach einer ID von 100 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 und einer ED von 100 mg/kg Kgw. am 3., 5. und 7. Tag subcutan.

Beide Tiere hatten nach 48 Stunden, dem Tage vor der 1. Wiederholungsinjektion, noch einen Blutspiegel von 9,8 bzw. 13,8 mg%. Eine noch nicht weit genug fortgeschrittene Eliminierung ließ erwarten, daß die Injektionen gleicher Mengen am 3., 5., 7. Tag zu einer Kumulierung führen würden.

Die Werte am Tage der Wiederholungsinjektionen stiegen ständig an. Nach 48 Stunden betrugen sie für Hund Nr. 4 9,8 mg% und für Hund Nr. 5 13,8 mg%, nach 96 Stunden 9,4 bzw. 15,8 mg%, nach 144 Stunden 10,0 bzw. 20,8 mg% und erreichten nach 192 Stunden eine Höhe von 14,2 bzw. 23,3 mg%.

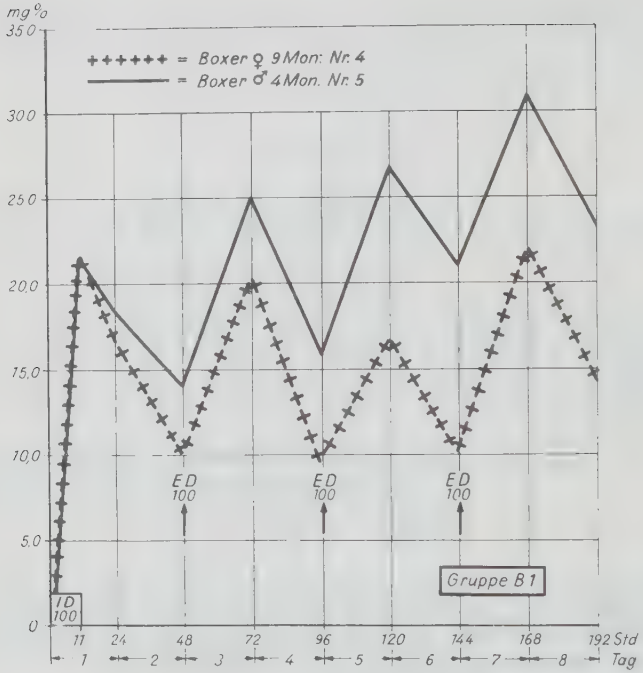


Abb. 3: Verlauf der Plasmakonzentration nach einer ID von 100 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 s. c.
und einer ED von 100 mg/kg Kgw. s. c. am 3., 5. und 7. Tag.

Gruppe B 2 (Tab. 12, Abb. 4)

Für diesen Versuch wurden Initial- und 1. Erhaltungsdosis gleich hoch, nämlich 100 mg/kg Kgw. gewählt, während die nächsten 2 Erhaltungsdosen jeweils 50 mg/kg Kgw. betrugen. Die Plasmakonzentrationen wurden in 12-stündigem Abstand gemessen.
Es wurden 2 erwachsene Hunde, Nr. 6 und 7, 13 und 8 Jahre alt, verwendet. Die Injektionen erfolgten subcutan. Die Verabreichung der Erhaltungsdosis erfolgte zu Beginn des 4., 7. und 10. Tages.

Gruppe B2

Hd. Nr.	Alter	↓ = Zeitpunkt der Applikation							
		↓1. Tag		2. Tag		3. Tag		↓4. Tag	
		Stunden nach Versuchsbeginn							
		12	24	36	48	60	72	84	96
6	13 J.	29,6	26,8	22,2	19,6	18,2	18,1	40,3	37,0
7	8 J.	22,0	21,4	18,0	16,8	14,4	12,8	29,4	26,0
		↓ = Zeitpunkt der Applikation							
		5. Tag		6. Tag		↓ 7. Tag		8. Tag	
		Stunden nach Versuchsbeginn							
		108	120	132	144	156	168	180	192
6		34,0	32,6	29,2	25,0	32,8	28,8	26,6	21,5
7		24,2	22,6	18,2	17,5	24,4	22,2	20,2	18,0
		↓ = Zeitpunkt der Applikation							
		9. Tag		↓ 10. Tag		11. Tag		12. Tag	
		Stunden nach Versuchsbeginn							
		204	216	228	240	252	264	278	
6		17,6							
7		15,5	12,6	20,6	17,6	14,4	13,6	11,0	

Tab. 12: ID 100 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 s. c., 1. ED
4. Tag 100 mg/kg Kgw. s. c., 2. und 3. ED
7. und 10. Tag je 50 mg/kg Kgw. subcutan.

Da es sich in der Gruppe B 2 um erwachsene Hunde handelt, lagen die Ergebnisse bei gleicher Dosierung doch beträchtlich höher, obwohl das Dosierungsintervall größer war.

Am Tage der 1. Nachdosierung, nach 72 Stunden, waren die Blutspiegel bei Hund Nr. 6 von 29,6 auf 18,1 mg% und bei Hund Nr. 7 von 22,0 auf 12,8 mg% abgesunken, um bei einer Dosis von 100 mg/kg Kgw. innerhalb von 12 Stunden auf 40,3 (Hund Nr. 6)

bzw. 29,4 mg% (Hund Nr. 7) anzusteigen. Zum Zeitpunkt der 2. Nachdosierung mit 50 mg/kg Kgw., nach 144 Std. (Ende des 6. Tages) konnten noch Werte von 25,0 mg% (Hund Nr. 6) und 17,5 mg% (Hund Nr. 7) nachgewiesen werden, die nach 12 Stunden auf 32,8 (Hund Nr. 6) bzw. 24,4 mg% stiegen, und am 9. Tag, nach 60 Stunden, immer noch bei 17,6 mg% bzw. 15,5 mg% lagen. Hund Nr. 7 erhielt am 10. Tag nochmals 50 mg/kg Kgw., stieg nach 12 Std. auf 20,6 mg% und wies nach weiteren 60 Std. noch einen Wert von 11 mg% auf. Eine Kumulation, wie sie bei gleich hoher Erhaltungsdosis auftrat, konnte nach Herabsetzen der Erhaltungsdosis um 50 % gegenüber der Initialdosis nicht mehr hervorgerufen werden.

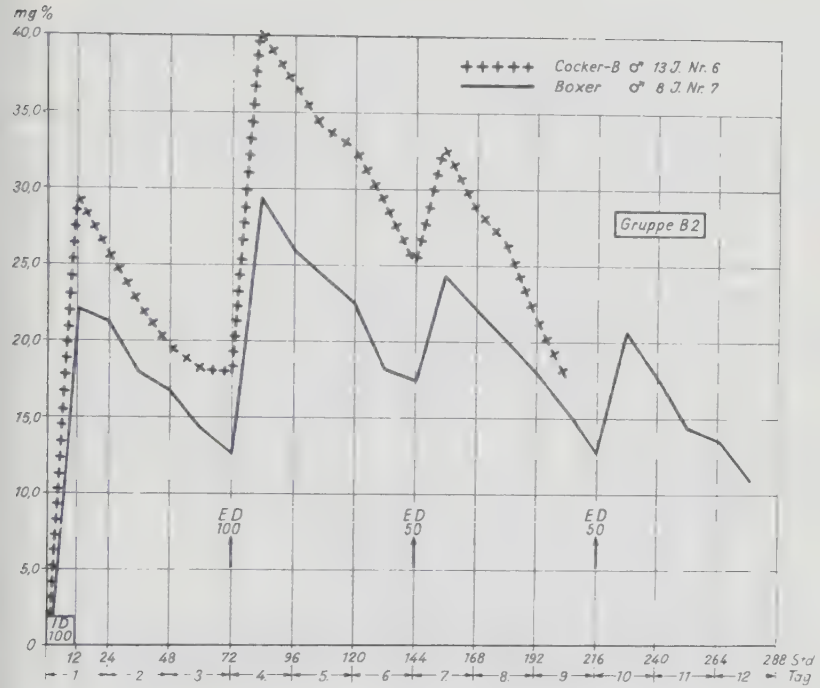


Abb. 4: Verlauf der Plasmakonzentration nach einer ID von 100 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 s. c., einer 1. ED von 100 mg/kg Kgw. s. c. am 4. Tag und einer 2. und 3. ED von 50 mg/kg Kgw. s. c. am 7. und 10. Tag.

Gruppen B 3 und B 4 (Tab. 13 und 14, Abb. 5 und 6)

Da eine Wiederholungsdosierung in Höhe der Initialdosis offensichtlich zu hohe Blutspiegelwerte erzeugt, wurde in diesen Versuchen die Erhaltungsdosis auf 70 % der Initialdosis, also 70 mg/kg Kgw. reduziert. Zwei Tieren, Nr. 8 und 9, 1 und 2 Jahre alt, wurde eine Anfangsdosis von 100 mg/kg Kgw. subcutan injiziert, Hund Nr. 8 (vgl. Tab. 13, Abb. 5) erhielt zu Beginn des 3., 5., 7., 9. und 11. Tages 70 mg/kg Kgw. subcutan und Hund Nr. 9 (vgl. Tab. 14, Abb. 6) zu Beginn des 4., 7., 10. Tages 70 mg/kg Kgw. subcutan. Zusätzlich wurden bei diesen Tieren noch die Vollblutwerte bestimmt. Die Blutabnahme erfolgte alle 24 Stunden.

Gruppe B3

Hd. Nr.	Alter	↓= Zeitpunkt der Applikation					
		↓1. Tag	2. Tag	↓3. Tag	4. Tag	↓5. Tag	6. Tag
		Stunden nach Versuchsbeginn					
8	1 J.	24	48	72	96	120	144
Plasma		23,8	16,8	29,2	22,0	30,8	21,2
Vollblut		19,0	13,8	24,2	17,0	25,4	17,5
		↓= Zeitpunkt der Applikation					
		↓7. Tag	8. Tag	↓9. Tag	10. Tag	↓11. Tag	
		Stunden nach Versuchsbeginn					
8	1 J.	168	192	216	240	264	
Plasma		30,6	20,3	30,8	22,2	31,8	
Vollblut		25,3	18,2	25,0	18,2	27,0	

Tab. 13: Blutplasma- und Vollblutkonzentration in mg% nach einer ID von 100 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 und einer ED von 70 mg/kg Kgw. am 3., 5., 7., 9. und 11. Tag subcutan.

Gruppe B 4

Hd. Nr.	Alter	↓= Zeitpunkt der Applikation					
		↓1. Tag	2. Tag	3. Tag	↓4. Tag	5. Tag	6. Tag
		Stunden nach Versuchsbeginn					
9	2 J.	24	48	72	96	120	144
Plasma		27,0	22,8	18,2	29,8	24,6	14,8
Vollblut		21,5	17,0	13,6	23,3	18,2	11,2
		↓= Zeitpunkt der Applikation					
		↓7. Tag	8, Tag	9. Tag	↓10. Tag	11. Tag	
		Stunden nach Versuchsbeginn					
9	2 J.	168	192	216	240	264	
Plasma		19,2	11,5	9,4	27,1	23,2	
Vollblut		15,6	10,4	7,4	18,8	19,0	

Tab. 14: Blutplasma- und Vollblutkonzentration in mg% nach einer ID von 100 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 und einer ED von 70 mg/kg Kgw. am 4., 7. und 10. Tag subcutan.

Bei dem einjährigen Tier Nr. 8 hielt sich der Blutspiegel am Tage der Nachmedikation und am folgenden Tage in gleicher Höhe, während bei Hund Nr. 9, dem im 3-tägigen Intervall das Sulfonamid appliziert wurde, eine leichte abnehmende Tendenz erkennbar war.

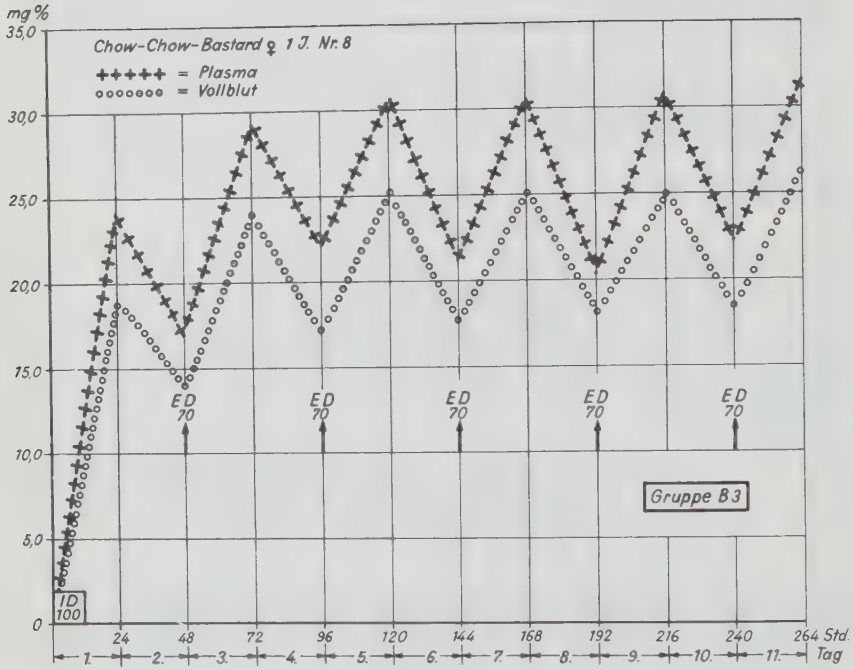


Abb. 5: Verlauf der Plasma- und Vollblutkonzentration nach einer ID von 100 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 s.c. und einer ED von 70 mg/kg Kgw. s.c. am 3., 5., 7. und 9. Tag.

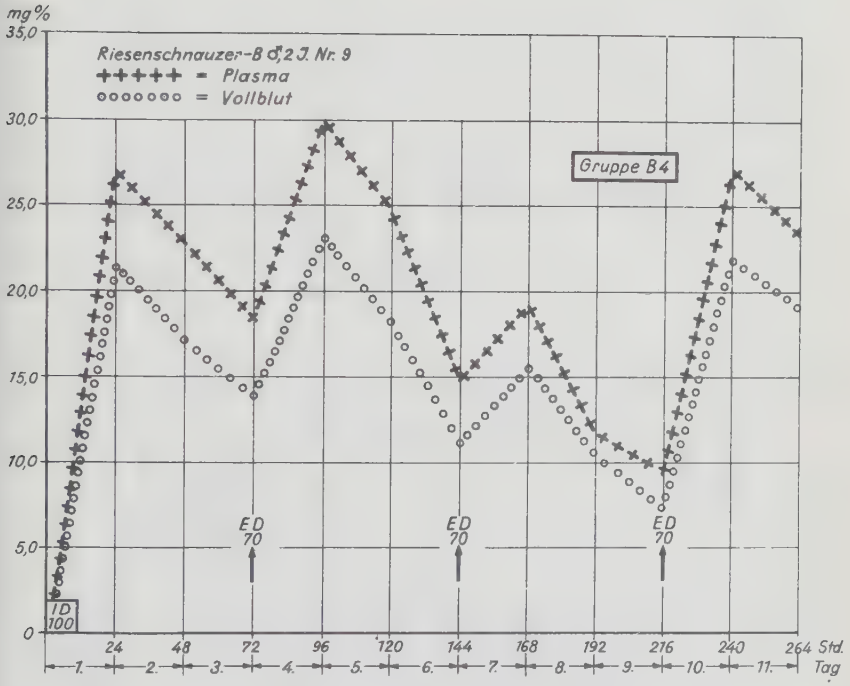


Abb. 6: Verlauf der Plasma- und Vollblutkonzentration nach einer ID von 100 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 s. c. und einer ED von 70 mg/kg Kgw. s. c. am 4., 7. und 10. Tag.

Gruppe B 5 (Tab. 15, Abb. 7)

Die Gruppe bestand aus 4 jungen, d. h. nicht ausgewachsenen Tieren (Nr. 10 - 13). Zwei waren 11, einer 5 Monate und einer 11 Wochen alt. Die Initialdosis von 100 mg/kg Kgw. wurde beibehalten und jeden 2. Tag, d. h. jeweils zu Beginn des 3., 5., 7. und 9. Tages 50 mg/kg Kgw. nachdosiert. Die Applikation erfolgte durch subcutane Injektion, die Blutabnahme alle 24 Stunden.

Her war auffallend, daß der jüngste, der 11 Wochen alte Hund, obgleich er einen ähnlichen Ausgangswert wie die anderen Hunde dieser Gruppe hatte, einen wesentlich schnelleren Abfall des Plasmaspiegels aufwies.

Gruppe B 5

Hd.		↓= Zeitpunkt der Applikation				
Nr.	Alter	↓1. Tag	2. Tag	↓3. Tag	4. Tag	↓5. Tag
		Stunden nach Versuchsbeginn				
		24	48	72	96	120
10	11 M.	19,2	12,4	14,4	8,2	12,6
11	11 M.	15,0	10,0	14,4	9,0	11,0
12	5 M.	20,0	14,0	19,0	13,0	20,6
13	11 W.	15,4	6,2	11,0	4,6	9,4
		↓= Zeitpunkt der Applikation				
		6. Tag	↓7. Tag	8. Tag	↓9. Tag	10. Tag
		Stunden nach Versuchsbeginn				
		144	168	192	216	240
10		7,2	11,6	6,6	11,6	
11		5,8	10,0	4,8	9,8	
12		14,2	17,4	10,6	13,0	7,2
13		3,8	7,5	2,4	5,8	2,0

Tab. 15: Blutplasmakonzentration in mg% nach einer ID von 100 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 und einer ED von 50 mg/kg Kgw. am 3., 5., 7. und 9. Tag subcutan.

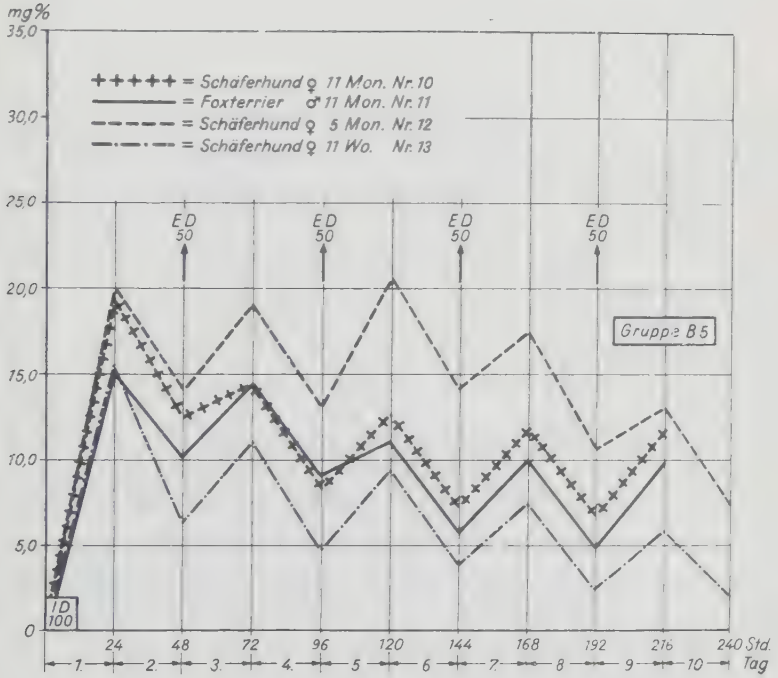


Abb. 7: Verlauf der Plasmakonzentration nach einer ID von 100 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 s.c. und einer ED von 50 mg/kg Kgw. s.c. am 3., 5., 7. und 9. Tag.

Gruppe B 6 (Tab. 16, Abb. 8)

Bei einer Gruppe von 4 Hunden (Nr. 14, 15, 16 und 17), im Alter von 13, 12, 4 und 1 Jahren, wurde die gleiche Dosierung wie in Gruppe B 5 gewählt, nur das Intervall der Nachdosierung um einen Tag verlängert. Die Tiere erhielten eine Initialdosis von 100 mg/kg Kgw. s. c. und zu Beginn des 4., 7. und 10. Tages je 50 mg/kg Kgw. s.c.

Die Blutabnahme erfolgte alle 24 Stunden.

Gruppe B6

Hd. Nr.	Alter		↓ 1. Tag	2. Tag	3. Tag	↓ 4. Tag	5. Tag	6. Tag
			Stunden nach Versuchsbeginn					
			24	48	72	96	120	144
14	13 J.		25,0	21,2	14,5	24,8	17,8	11,7
15	12 J.	Plasma	20,5	13,8	7,0	15,4	11,2	7,4
		Vollblut	16,0	9,5	5,0	11,8	8,0	4,9
16	4 J.		20,0	14,2	10,2	15,2	9,5	5,5
17	1 J.		19,5	15,0	10,8	17,4	12,2	7,8
			↓ = Zeitpunkt der Applikation					
			↓ 7. Tag	8. Tag	9. Tag	↓ 10. Tag	11. Tag	12. Tag
			Stunden nach Versuchsbeginn					
			168	192	216	240	264	288
14			20,7	14,8	9,2	16,4	10,0	5,6
15		Plasma	13,2	7,4	4,0	12,0		
		Vollblut	10,4	5,4	3,2	8,6		
16			12,5	9,0	6,1			
17			15,2	11,0				

Tab. 16: Blutplasma- und Vollblutkonzentration in mg% nach einer ID von 100 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 und einer ED von 50 mg/kg Kgw. am 4., 7. und 10. Tag subcutan.

Zu den Plasmaspiegelwerten wurden bei Hund Nr. 15 noch die Vollblutspiegelwerte (vgl. Abb. 15) aufgezeichnet. Bei der hohen Initialdosis von 100 mg/kg Kgw. und einer Nachmedikation von 50 mg/kg Kgw. wurden am Tage der fälligen Nachdosierung - also am 4., 7. und 10. Tag - Werte ermittelt, die im Bereich zwischen 14,5 und

4,0 mg% lagen.

Die höchsten Konzentrationen konnten wiederum bei dem ältesten Hund, Nr. 14, gemessen werden. Erst am 12. Tag war der Sulfonamidspiegel im Plasma auf 5,6 mg% abgesunken, während er vorher beträchtlich höher, meist über 10 mg% lag.

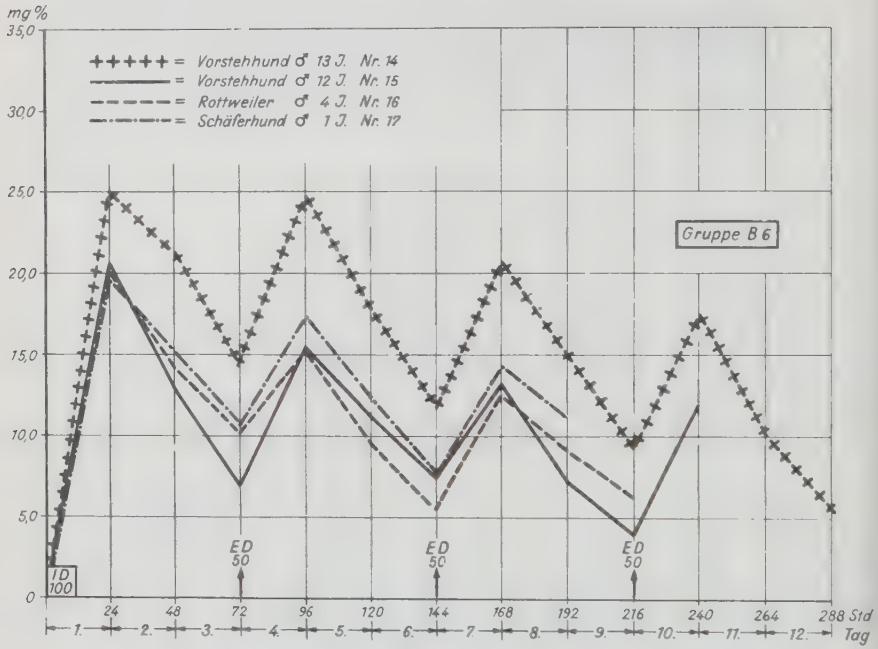


Abb. 8: Verlauf der Plasmakonzentration nach einer ID von 100 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 s. c. und einer ED von 50 mg/kg Kgw. s. c. am 4., 7. und 10. Tag.

Gruppe B 7 (Tab. 17, Abb. 9)

Nach demselben Dosierungsschema wie in Gruppe B 6 wurden die Tiere Nr. 18 und 19 behandelt. Lediglich die Applikationsart unterschied sich, da die Initialdosis subcutan appliziert wurde, während die Erhaltungsdosis peroral in Form von Tabletten gereicht wurde. Die Blutproben wurden alle 24 Stunden entnommen.

Gruppe B 7

Hd. Nr.	Alter	↓ = Zeitpunkt der Applikation				
		↓1. Tag	2. Tag	3. Tag	↓4. Tag	5. Tag
		Stunden nach Versuchsbeginn				
		24	48	72	96	120
18	12 J.	24,0	19,6	14,6	22,2	18,3
19	9 J.	35,5	29,6	28,2	32,6	30,4
		↓ = Zeitpunkt der Applikation				
		6. Tag	↓7. Tag	8. Tag	9. Tag	↓10. Tag
		Stunden nach Versuchsbeginn				
		144	168	192	216	240
18		14,8	20,8	16,6	12,4	19,8
19		25,5	35,4	32,1	26,6	40,6

Tab. 17: Blutplasmakonzentration in mg% nach einer ID von 100 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 s.c. und einer ED von 50 mg/kg Kgw. peroral am 4., 7. und 10. Tag.

Es handelt sich hier um 2 erwachsene Tiere, - 12 und 9 Jahre alt -, wobei der Hund Nr. 19 außergewöhnlich hohe Blutspiegelwerte mit Neigung zur Kumulation zeigte. Bei beiden Tieren lagen die Werte am Tage der Nachdosierung noch hoch.

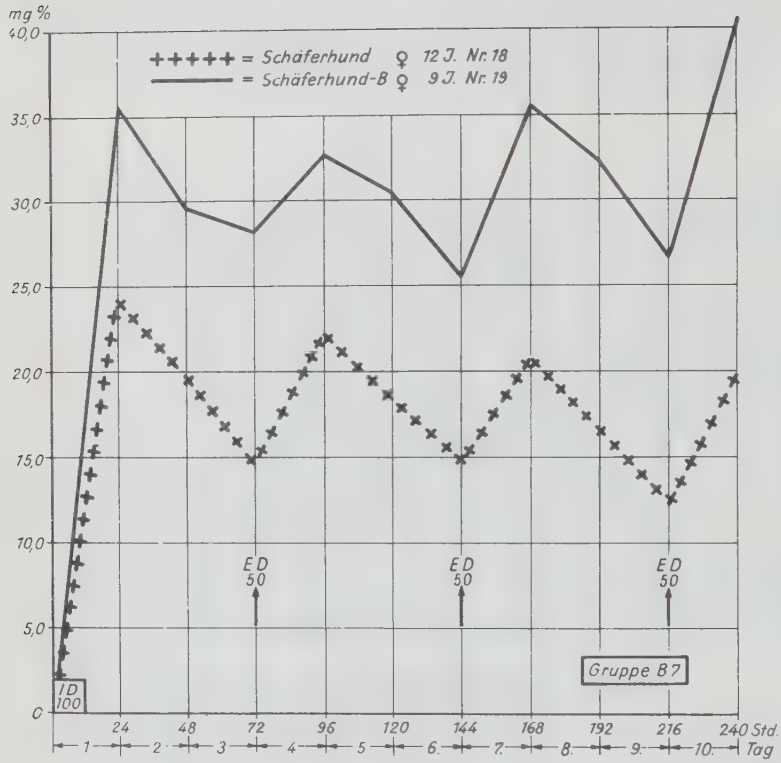


Abb. 9: Verlauf der Plasmakonzentration nach einer ID von 100 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 s.c. und einer ED von 50 mg/kg Kgw. p.o. am 4., 7. und 10. Tag.

Gruppe B 8 (Tab. 18, Abb. 10)

Das Dosierungsschema der Gruppe B 7 wurde derart variiert, daß das Dosisintervall um einen Tag verlängert wurde.

Die Hunde Nr. 20, 21 und 22, im Alter von 4 Jahren, 11 und 5 Monaten erhielten 100 mg/kg Kgw. als Initialdosis und 50 mg/kg Kgw. am 5., 9. und 13. Tag, also jeden 4. Tag. Nur der Hund Nr. 20, eine 4jährige Dogge, erhielt am 13. Tag kein Medikament mehr. Die Plasmakonzentrationen wurden alle 24 Stunden ermittelt, jedoch bei der Dogge alle 12 Stunden. Die Applikationsart war bei diesem Tier für die Anfangsdosis eine i. v. -Injektion, die Nachdosierung erfolgte peroral mittels Tabletten. Die Hunde Nr. 21 und 22 erhielten nur subcutane Injektionen.

Während die 4jährige Dogge bis zum Ende des 12. Tages bei dieser Form der Dosierung einen Plasmaspiegel von über 3,8 mg% zeigte, war die Elimination bei den beiden jugendlichen Hunden (Nr. 21 und 22) so beschleunigt, daß bereits am Tage vor der Nachdosierung, also am 3. Tag post inj., extrem niedrige Werte zu verzeichnen waren.

Bei Hund Nr. 21 lag der Sulfonamidspiegel bereits 2 Tage nach jeder Injektion sehr niedrig.

Gruppe B 8

Hd. Nr.	Alter	↓= Zeitpunkt der Applikation 1. Tag		2. Tag		3. Tag		4. Tag		↓5. Tag		6. Tag	
		Stunden nach Versuchsbeginn											
		12	24	36	48	60	72	84	96	108	120	132	144
20	4 J.	21,5	18,4	16,8	14,4	12,4	12,0	8,9	8,2	16,8	15,2	12,4	10,8
21	11 M.		8,6	5,3	2,0		0,8		0,7		7,0		2,0
22	5 M.		16,0		10,6		6,4		3,3		9,5		5,6
		↓= Zeitpunkt der Applikation 7. Tag		8. Tag		↓9. Tag		10. Tag		11. Tag		12. Tag	
		Stunden nach Versuchsbeginn											
		156	168	180	192	204	216	228	240	252	264	276	288
20		8,0	6,6	4,5	3,9	12,4	11,8	10,3	8,8	6,8	6,0	4,4	3,8
21			0,4		0,4		10,4		4,6		2,2		1,8
22			2,6		0,8		10,0		7,0		3,2		1,4
		↓= Zeitpunkt der Applikation ↓13. Tag		14. Tag		15. Tag		16. Tag		↓17. Tag		18. Tag	
		Stunden nach Versuchsbeginn											
		300	312	324	336	360		384		408		432	
20		2,8	2,5	1,8	1,7								
21			4,8		2,0	0,4		0,4		9,0		7,6	
22			10,7		5,8	3,0		1,2		11,6		6,0	
												19. Tag	
20												456	
21												1,8	
22												2,4	

Tab. 18: Blutplasmakonzentration in mg% nach einer ID von 100 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 i.v. bei Hund Nr. 20, s.c. bei Nr. 21 und 22;
und einer ED von 50 mg/kg Kgw. bei Nr. 20 peroral, bei Nr. 21 und 22 s.c., jeweils am 5., 9., 13. und 17. Tag.

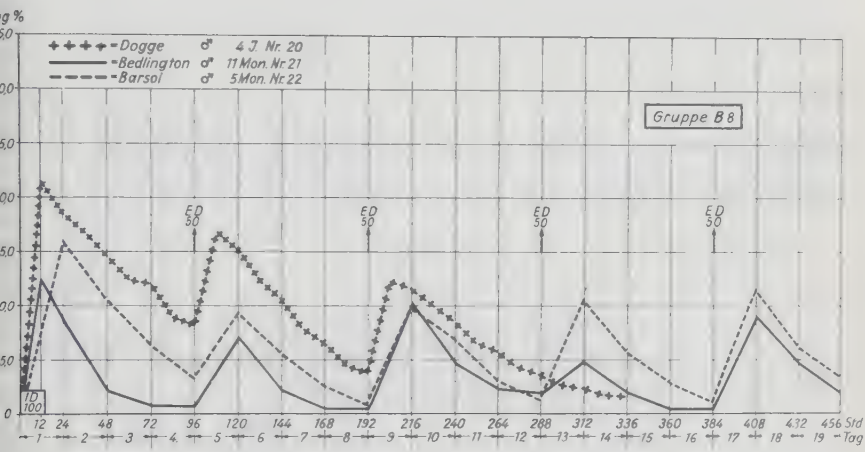


Abb. 10: Verlauf der Plasmakonzentration nach einer ID von 100 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 i. v. bei Hund Nr. 20, s. c. bei Nr. 21 und 22 und einer ED von 50 mg/kg Kgw. peroral bei Hund Nr. 20, s. c. bei Nr. 21 und 22 am 5., 9., 13. und 17. Tag.

Eine Initialdosis von 100 mg/kg Kgw. ergab bei den bisher untersuchten 22 Tieren einen 24-Stunden-Wert von über 10 mg% in 10 Fällen, von 20 mg% und darüber in 11 Fällen und nur bei einem Tier, einem 11 Monate alten Bedlington-Terrier einen Wert von 8,6 mg%.

Diese Werte liegen ungewöhnlich hoch, deshalb wurde der Versuch B 9 unternommen, um festzustellen, welche Werte mit einer um 50 % erniedrigten Initialdosis zu erreichen wären. Hierbei wurde die Erhaltungsdosis in derselben Höhe im 2-tägigen Intervall gegeben.

Gruppe B 9 (Tab. 19, Abb. 11)

Zwei Hunden, Nr. 23 und 24, im Alter von 12 und 3 Jahren, wurde das Präparat subcutan injiziert, während bei einem Tier (Nr. 25) im Alter von 6 Monaten, die perorale Form vorgezogen wurde. Die Blutabnahme erfolgte jeweils nach 24 Stunden.

Gruppe B 9

Hd. Nr.	Alter	↓= Zeitpunkt der Applikation						
		↓1. Tag	2. Tag	↓3. Tag	4. Tag	↓5. Tag	6. Tag	↓7. Tag
		Stunden nach Versuchsbeginn						
		24	48	72	96	120	144	168
23	12 J.	11,2	7,3	14,8	9,6	16,2	9,6	
24	3 J.	14,8	11,4	21,0	16,2	26,6	20,8	27,4
25	6 M.	6,6	3,0	8,6	5,7	11,8	6,0	10,4
		↓= Zeitpunkt der Applikation						
		8. Tag	↓9. Tag	10. Tag	↓11. Tag	12. Tag	↓13. Tag	14. Tag
		Stunden nach Versuchsbeginn						
		192	216	240	264	288	312	336
23								
24		22,0	27,0	22,7	30,4	25,4	32,0	25,2
25		5,4	10,3					

Tab. 19: Blutplasmakonzentration in mg% nach einer ID von 50 mg/kg Kgw. und einer ED von 50 mg/kg Kgw. s. c. bei Hund Nr. 23 und 24; bei Hund Nr. 25 peroral, jeweils am 3., 5., 7. und 9. Tag, bei Nr. 24 auch noch am 11. und 13. Tag.

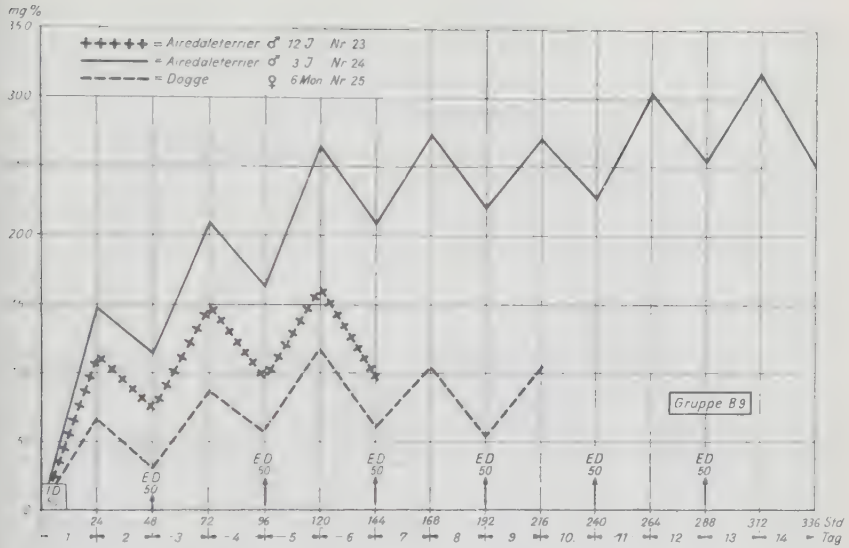


Abb. 11: Verlauf der Plasmakonzentration nach einer ID von 50 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 s. c. bei Hund Nr. 23 und 24, peroral bei Nr. 25
und einer ED von 50 mg/kg Kgw. s. c. bei Hund Nr. 23 und 24 und peroral bei Nr. 25
am 3., 5., 7., 9., 11. und 13. Tag.

Auch hier zeigten die erwachsenen Tiere Nr. 23 und 24 wiederum hohe Blutspiegelwerte. Bei Hund Nr. 24 führte die kurzfristige Wiederholung der Initialdosis durch die langsame Eliminierung zu einer Kumulation, so daß am 14. Tage, 1 Tag nach der 6. Erhaltungsdosis, die Blutspiegelkonzentration mehr als doppelt so hoch wie am 2. Tag war. Lediglich bei dem jungen Hund hielt sich die Plasmakonzentration am Tage der Nachdosierung zwischen 5 und 6 mg%, um dann 24 Stunden nach der Applikation auf das doppelte anzusteigen. Da das Nachdosierungsintervall offensichtlich zu kurz gewählt war, wurde in

Gruppe B 10 (Tab. 20, Abb. 12)

bei Beibehaltung der Dosierung die Nachmedikation einen Tag später durchgeführt, d. h. jeweils zu Beginn des 4., 7., 10. und 13. Tages. 4 Hunde (Nr. 26, 27, 28 und 29), 9, 1 1/2, 3 1/2 und 1 Jahr alt, erhielten als Initialdosis und als Erhaltungsdosis 50 mg/kg Kgw. in Form der subcutanen Injektion. Die Blutabnahme erfolgte erstmals nach 12 Stunden und dann im 24stündigen Abstand.

Gruppe B 10

Hd. Nr.	Alter	↓= Zeitpunkt der Applikation							
		↓1. Tag		2. Tag	3. Tag	↓4. Tag	5. Tag	6. Tag	↓7. Tag
		Stunden nach Versuchsbeginn							
		12	24	48	72	96	120	144	168
26	9 J.	15,3	15,8	14,8	12,7	23,2	22,2	17,5	24,8
27	3 1/2 J.	12,1	11,2	7,5	4,8	16,0	10,8	8,4	17,2
28	1 1/2 J.	7,2	3,4	0,4	0	4,8	0,3	0	3,8
29	1 J.	4,8	4,0	0,6	0	7,5	0	0	9,4

		↓= Zeitpunkt der Applikation							
		8. Tag	9. Tag	↓10. Tag	11. Tag	12. Tag	↓13. Tag	14. T.	15. T.
		Stunden nach Versuchsbeginn							
		192	216	240	264	288	312	336	360
26		21,1							
27		13,6	9,8	19,4	14,0	10,0	20,4	15,0	10,6
28		0,6	0,6	5,6					
29		2,4	0,4						

Tab. 20: Blutplasmakonzentration in mg% nach einer ID und ED von 50 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 am 4., 7., 10. und 13. Tag subcutan.

Analog den vorangegangenen Gruppen ist auch hier ein deutlicher Unterschied in der Ausscheidung zwischen den erwachsenen, dem älteren (Nr. 26), dem in mittleren Jahren (Nr. 27) und den beiden jungen Tieren zu bemerken. Die Hunde Nr. 28 und 29 sind Schäferhunde, deren Zugehörigkeit zu einer größeren Rasse auch eine spätere körperliche Reife bedingt, so daß sie wohl noch der Gruppe der jugendlichen Tiere zuzuordnen sind. Diese beiden jungen Tiere zeigen auch hier wieder gegenüber dem ältesten Hund dieser Gruppe ein schnelleres Absinken des Sulfonamidspiegels.

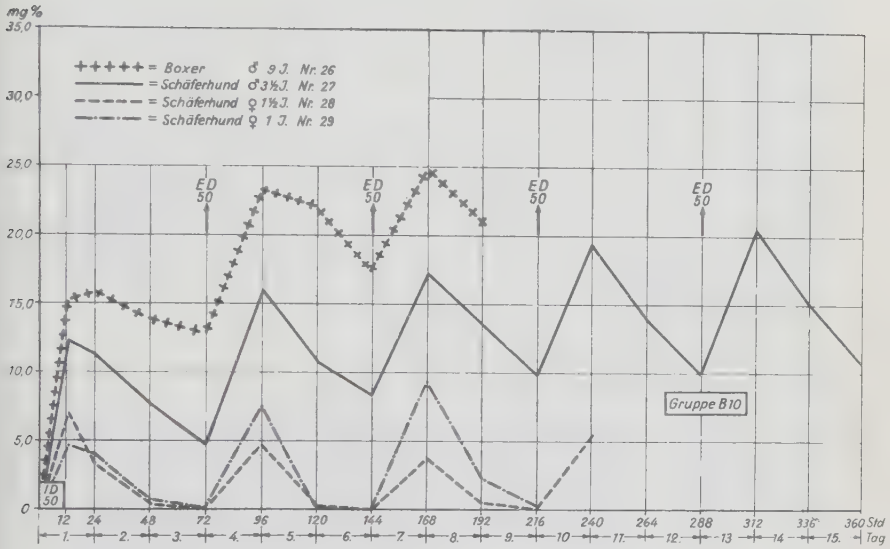


Abb. 12: Verlauf der Plasmakonzentration nach einer ID von 50 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 s. c. und einer ED von 50 mg/kg Kgw. s. c. am 4., 7., 10. und 13. Tag.

Gruppe B 11 (Tab. 21, Abb. 13)

Da eine Initialdosis von 50 mg/kg Kgw. für erwachsene Hunde einen recht hohen Blutspiegel bedingt, und eine gleichhohe Fortdosierung zu Kumulationserscheinungen führt, wurde in dieser Gruppe die Initialdosis niedriger gewählt und die Erhaltungsdosis um 50 % herabgesetzt.

4 Hunde, Nr. 30, 31, 32 und 33, im Alter von 12, 8, 8 und 2 Jahren, erhielten am 1. Tag 40 mg/kg Kgw. subcutan und am 4. und 7. Tage jeweils 20 mg/kg Kgw. subcutan bzw. peroral (Nr. 33). Bei Hund Nr. 30 wurde die Nachdosierung bis zum 13. Tag, bei Hund Nr. 31 bis zum 16. Tag und bei Hund Nr. 32 bis zum 10. Tag durchgeführt. Hund Nr. 33 mußte am 7. Tag aus dem Versuch genommen werden, weil der Klinikaufenthalt beendet war. Die Blutabnahme erfolgte alle 24 Stunden.

Gruppe B 11

Hd. Nr.	Alter	↓= Zeitpunkt der Applikation							
		↓ 1. Tag	2. Tag	3. Tag	↓4. Tag	5. Tag	6. Tag	↓7. Tag	8. Tag
		Stunden nach Versuchsbeginn							
		24	48	72	96	120	144	168	192
30	12 J.	8,7	5,8	4,2	8,6	6,0	4,6	7,4	4,4
31	8 J.	12,7	7,4	5,2	8,0	5,4	3,6	7,8	4,6
32	8 J.	12,8	8,5	6,0	9,8	7,6	5,0	8,4	4,4
33	2 J.	15,2	10,8	6,2	7,4	4,2	2,6	5,5	
		↓= Zeitpunkt der Applikation							
		9. Tag	↓10. Tag	11. Tag	12. Tag	↓13. Tag	14. Tag	15. Tag	
		Stunden nach Versuchsbeginn							
		216	240	264	288	312	336	360	
30		2,6	6,0	3,4	2,4	6,6	4,8	3,0	
31		2,2	6,0	3,2	1,6	5,9	3,3	1,8	
32		2,8	5,8	4,4					
33									

zu Gruppe B11

Hd. Nr.	Alter	↓ = Zeitpunkt der Applikation		
		↓ 16. Tag	17. Tag	
		Stunden nach Versuchsbeginn		
		384	408	
30	12 J.			
31	8 J.	4,9	3,6	
32	8 J.			
33	2 J.			

Tab. 21: Blutplasmakonzentration in mg% nach einer ID von 40 mg/kg Kgw. und einer ED von 20 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 am 4., 7., 10., 13. und 16. Tag s.c.; bei Hund Nr. 33 peroral.

Vorstehende Werte zeigen, daß nach 24 Stunden ein so hoher Blutspiegel erzeugt wird, daß er bis zur ersten Nachdosierung noch zwischen 4,2 und 6,2 mg% liegt, um dann nach 24 Stunden trotz halber Dosierung wieder auf 8,6; 8,0; 9,8 und 7,4 mg% anzusteigen. Vor Gabe der 2. Erhaltungsdosis sind noch Blutspiegel von 2,6 - 5,0 mg% zu messen.

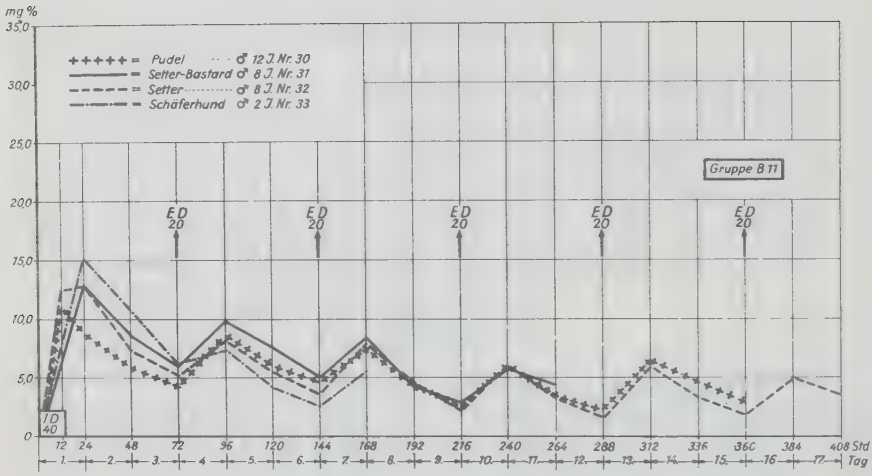


Abb. 13: Verlauf der Plasmakonzentration nach einer ID von 40 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 s. c. und einer ED von 20 mg/kg Kgw. s. c. bei Hund Nr. 30, 31 und 32, peroral bei Nr. 33 am 4., 7., 10., 13. und 16. Tag.

Gruppe B 12 (Tab. 22, Abb. 14)

Im letzten Versuch wurde die Initialdosis wiederum herabgesetzt, nunmehr aber die Wiederholungsdosis in gleicher Höhe appliziert. Zwei Schäferhunde (Nr. 34 und 35), 7 und 1 1/2 Jahre alt, erhielten am 1. Tag 30 mg/kg Kgw. und jeden 3. Tag 30 mg/kg Kgw. subcutan injiziert. Blutproben wurden alle 24 Stunden entnommen. Bei Hund Nr. 34 wurde nur einmal nachdosiert, trotzdem lassen die gewonnenen Werte wieder eine leichte Neigung zur Kumulation erkennen. Obwohl die Dosierung sehr niedrig gehalten wurde, findet sich am Ende des 6. Tages noch ein Blutspiegel von 6,6 mg%. Bei dem jungen Hund Nr. 35 erfolgt die Ausscheidung wesentlich schneller.

Gruppe B 12

Hd. Nr.	Alter	↓ = Zeitpunkt der Applikation						
		↓1. Tag		2. Tag	3. Tag	↓4. Tag	5. Tag	6. Tag
		Stunden nach Versuchsbeginn						
		12	24	48	72	96	120	144
34	7 J.	10,0	8,5	6,4	4,2	13,0	9,4	6,6
35	1 1/2 J.		5,6	3,4	1,6	6,3	3,7	2,2
		↓ = Zeitpunkt der Applikation						
		↓7. Tag		8. Tag	9. Tag	↓10. Tag	11. Tag	12. Tag
		Stunden nach Versuchsbeginn						
		168		192	216	240	264	288
34								
35		6,8		3,3	1,5	6,1	3,0	1,2

Tab. 22: Blutplasmakonzentration in mg% nach einer ID und ED von 30 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 am 4., 7. und 10. Tag subcutan.

Die neuerliche Gabe der Erhaltungsdosis am 8. Tag zeigt nunmehr eine diminutive Tendenz.

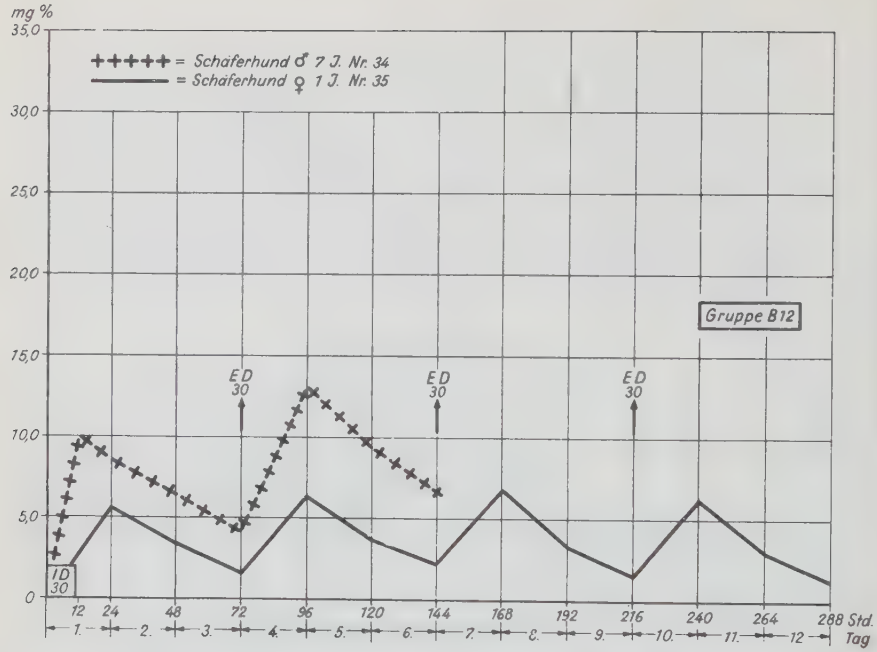


Abb. 14: Verlauf der Plasmakonzentration nach einer ID von 30 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 s. c. und einer ED von 30 mg/kg Kgw. s. c. am 4., 7. und 10. Tag.

5. Eliminationskonstante und Halbwertzeit

DOST (10) hat vorgeschlagen, zur Kennzeichnung der Eliminationsgeschwindigkeit eines Stoffes die Exponentialfunktionen heranzuziehen und die Eliminationsgeschwindigkeit durch Einführung einer Halbwertzeit des Blut- bzw. Plasmaspiegels zu charakterisieren. Unter Halbwertzeit versteht er die Zeitspanne, in der nach einer ersten Blutspiegelmessung der erhaltene Wert infolge der Elimination auf die Hälfte abgesunken ist.

Da, wie schon erwähnt, die Zuordnung der Sulfonamide zu den Gruppen der Kurz-, Mittel- und Langzeitsulfonamide heute vielfach mittels der Eliminations-Halbwertzeit (HWZ) erfolgt, schien es zweckmäßig, die Halbwertzeit für Ro 4-4393 bei vier Hunden dieses Untersuchungsmaterials zu errechnen.

Es sind dies die Hunde Nr. 1
Nr. 2 Tab. 5, Abb. 2
Nr. 3
Nr. 30 Tab. 8, Abb. 13.

Hunde Nr. 1 - 3 erhielten 100 mg/kg Kgw. intravenös.
Hund Nr. 30 erhielt 40 mg/kg Kgw. subcutan.

Da bei einer halblogarithmischen Darstellung die Ausscheidungsfunktionen linear verlaufen, konnten für das zugrundeliegende Material die optimalen Geraden nach der Methode der kleinsten Quadrate berechnet werden.

Es ergaben sich für Hund Nr. 1 $\ln Y = 5,9726 - 0,0088\ t$
Hund Nr. 2 $\ln Y = 5,7427 - 0,0192\ t$
Hund Nr. 3 $\ln Y = 5,7066 - 0,032\ t$
Hund Nr. 30 $\ln Y = 4,8785 - 0,0162\ t$

Durch Transformation der Ergebnisse in den nicht logarithmischen Maßstab ergaben sich folgende Formeln für die vier Ausscheidungsfunktionen:

$$\text{Hund Nr. 1 } Y = 39,25\ e^{-0,0088\ t}$$
$$\text{Hund Nr. 2 } Y = 31,2\ e^{-0,0192\ t}$$
$$\text{Hund Nr. 3 } Y = 30,09\ e^{-0,032\ t}$$
$$\text{Hund Nr. 30 } Y = 13,15\ e^{-0,0162\ t}$$

Die Steigung der Geraden (ln Y) bzw. der Exponent der Ausscheidung (Y) entspricht dem jeweiligen Wert der Eliminationskonstanten.

Für die Berechnung der Halbwertzeit ist ausschließlich die Eliminationskonstante von Bedeutung.

Die Berechnungsformel nach DOST (10) lautet:

$$t_{halb} = \frac{1}{k_2} \ln 2 = \frac{0,6931}{k_2}$$

Für die untersuchten Hunde ließen sich folgende Halbwertzeiten im Mittel errechnen:

Hund Nr. 1 (14 Jahre alt) : HWZ = $78^h_h 34'$
Hund Nr. 2 (4 Jahre alt) : HWZ = $36^h\ 1'$
Hund Nr. 3 (5 1/2 Monate alt) :
HWZ = $21^h_h\ 40'$
Hund Nr. 30 (12 Jahre alt) : HWZ = $42^h\ 31'$

6. Gegenüberstellung von Plasma-Vollblutkonzentration

Es ist bekannt, daß Sulfonamide eine verschieden starke Erythrocyten-Bindung aufweisen, daher war es von Interesse, die Unterschiede zwischen Plasma- und Vollblutwerten festzustellen.

Bei drei Tieren wurden die Vollblutkonzentrationen zusätzlich zu denen des Plasmas bestimmt. Die Werte sind in der Tabelle 23 zusammengestellt.

Hd. Nr.	Alter	↓ = Zeitpunkt der Applikation					
		↓ 1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag
		Stunden nach Versuchsbeginn					
		24	48	72	96	120	144
8	1 J.	P 23,8	16,8	↓29,2	22,0	↓30,8	21,2
		V 19,0	13,8	↓24,2	17,0	↓25,4	17,5
9	2 J.	P 27,0	22,8	18,2	↓29,8	24,6	14,8
		V 21,5	17,0	13,6	↓23,3	18,2	11,2
15	12 J.	P 20,5	13,8	7,0	↓15,4	11,2	7,4
		V 16,0	9,5	5,0	↓11,8	8,0	4,9
		↓ = Zeitpunkt der Applikation					
		7. Tag	8. Tag	9. Tag	10. Tag	11. Tag	
		Stunden nach Versuchsbeginn					
		168	192	216	240	264	
8		↓P 30,6	20,3	↓30,8	22,2	↓31,8	
		↓V 25,3	18,2	↓25,0	18,2	↓27,0	
9		↓P 19,2	11,5	9,4	↓27,1	23,2	
		↓V 15,6	10,4	7,4	↓18,8	19,0	
15		↓P 13,2	7,4	4,0	↓12,0		
		↓V 10,4	5,4	3,2	↓ 8,6		

P = Plasmakonzentration

V = Vollblutkonzentration

Tab. 23: Nr. 8 (Gruppe B 3 Abb. 5) ID = 100 mg/kg Kgw. s. c. jeden 3., 5., 7., 9. und 11. Tag

Nr. 9 (Gruppe B 4 Abb. 6) ID = 100 mg/kg Kgw. s. c. jeden 4., 7., 10. Tag

Nr. 15 (Gruppe B 6 Abb. 15) ID = 100 mg/kg Kgw. s. c. jeden 4., 7., 10. Tag

Aus ihr geht hervor, daß die Plasmawerte stets über den Vollblutwerten lagen.

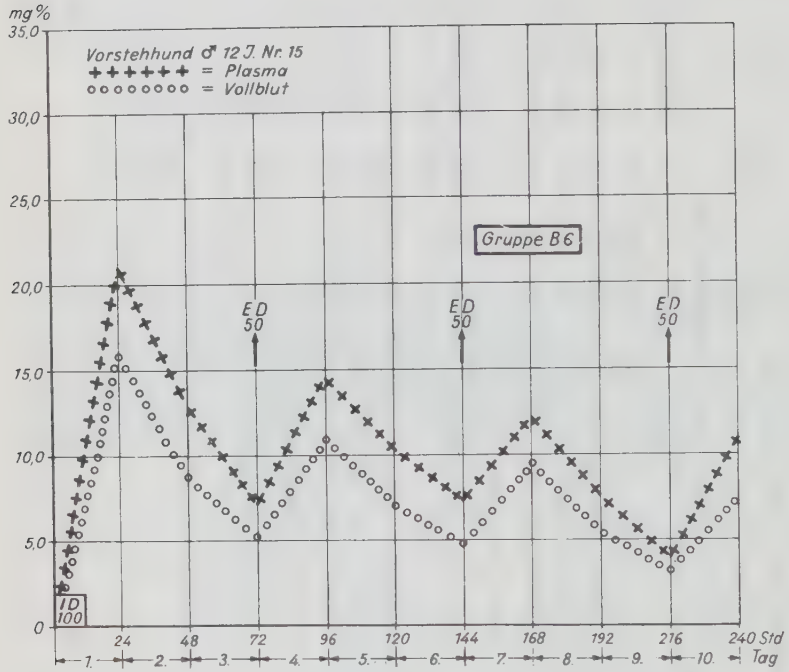


Abb. 15: Verlauf der Plasma- und Vollblutkonzentration nach einer ID von 100 mg/kg Kgw. Ro 4-4393 s. c. und eine ED von 50 mg/kg Kgw. s. c. am 4., 7. und 10. Tag bei Hund Nr. 15 aus Gruppe B 6.

E Diskussion

Vor Eintritt in die Diskussion erscheint es zweckmäßig, die Versuchsergebnisse in kurzgefaßter Form voranzustellen:

a) Das Präparat ist unabhängig von der Applikationsart und der Höhe der hier vorgenommenen Dosierung sehr gut verträglich.

b) Der Applikationsform, ob subcutane oder intravenöse Injektion, braucht keine besondere Bedeutung beigemessen zu werden, da auch bei der subcutanen Verabreichung schon nach 2 Stunden ein günstiger Blutspiegel erreicht wird.
Eine perorale Gabe der Erhaltungsdosis erzielt gleichhohe Werte wie eine parenterale.

c) Jüngere Tiere scheiden das Chemotherapeuticum wesentlich schneller aus als ältere.

d) In einer Reihe von Fällen wurde Kumulation festgestellt; entsprechend der langsameren Elimination neigen ältere Tiere eher zur Kumulation. Toxische Nebenwirkungen konnten dabei nicht beobachtet werden.

e) Die Berechnung der Halbwertzeit zeigt, daß auch bei der Anwendung am Hund die Zuordnung des Chemotherapeuticums Ro 4-4393 zu den Langzeitsulfonamiden gerechtfertigt ist. Die Halbwertzeiten lassen gleichzeitig klar erkennen, daß die Elimination bei jüngeren Tieren wesentlich schneller ist, als bei älteren.

f) Es empfiehlt sich, in jedem Falle die Sulfonamidkonzentrationen im Plasma und nicht im Vollblut zu ermitteln, da sie einmal eine größere Genauigkeit aufweisen und zum anderen das Vollblut durch die unterschiedliche Bindung der einzelnen Sulfonamide an die Erythrocyten ein weniger homogenes Untersuchungsmaterial ist.

Die vorliegenden Plasmakonzentrationsbestimmungen erlauben nicht ohne weiteres Rückschlüsse auf die therapeutische Wirksamkeit des untersuchten Sulfonamids, da bislang keine Einmütigkeit darüber herrscht, inwieweit die Höhe des Blutspiegels für die Wirksamkeit eines Sulfonamids bestimmend ist. Es ist deshalb auch nicht sicher zu sagen, wie hoch für das Langzeitsulfonamid Ro 4-4393 der "therapeutische Blutspiegel" beim Hund angesehen werden kann.

Da es aber unter klinischen Verhältnissen meist unmöglich ist, Gewebsanalysen vorzunehmen, muß sich die Beurteilung eines Sulfonamids trotz aller Einschränkung vorerst hauptsächlich auf die Blutkonzentration beschränken, denn wenn von der Höhe der Blutkonzentration auch nicht ausschließlich auf einen therapeutischen Effekt zu schließen ist, da für den therapeutischen Wert eines Sulfonamids nach DOMAGK (8) nicht sein Blutspiegel, sondern seine spezifische Erregerwirksam-

keit und seine lange andauernde und genügend hohe Konzentration maßgebend sind, so stellt ihre Bestimmung doch ein wertvolles Hilfsmittel in der Beurteilung eines Sulfonamids dar.

Über die zu fordernde oder anzustrebende Größenordnung des therapeutisch wirksamen Blutspiegels läßt das bisherige Schrifttum keine einheitliche Auffassung erkennen. GSELL (19) gibt bereits 1946 an, daß bei der Pneumoniebehandlung des Menschen 6 mg% als mittlerer Grenzwert der optimalen Konzentration anzusehen ist.

WELSH und Mitarbeiter (45) glaubten 1946, daß eine Blutspiegelkonzentration über 5 mg%, vorzugsweise über 8 mg%, über 24 Stunden zu fordern ist, während sie höhere Konzentrationen von 20 mg% und mehr als "verschwenderisch und gefährlich" ansehen und zu vermeiden empfehlen. BURKHART und Mitarbeiter (4) konnten bei Untersuchungen an Hunden und Katzen mit Sulfamethazin selbst bei Blutspiegelwerten von mehr als 25 mg% keine Toxizität hervorrufen. Eine Sulfonamidkonzentration von 2 - 5 mg% im Blut hält BOLLE (2) für ausreichend, während BOGER, STICKLAND und GYLFE (1), DENNIG und WALTZ (6) sowie LITCHFIELD (28) unter anderem auch für Sulfamethoxypyridazin (Lederkyn (R)) eine Konzentration von 5 - 8 - 10 mg% fordern. Das entspricht den Angaben von TOWNSEND und BORGSTEDT (42), den therapeutisch tüchtigen Blutspiegel mit 6 - 8 mg% anzusehen. Dagegen stellt LONG (29) die Forderung eines Blutspiegels bei schweren Infektionen von 10 - 15 mg% und bei leichten von 5 - 10 mg%.
Nach Untersuchungen mit Sulfamethylphenazol beim Pferd (LÜDECKE (30)) soll die Blutspiegelkonzentration mindestens 5 mg% über 3 - 4 Tage betragen, weil nur dann eine genügend hohe Gewebskonzentration gewährleistet ist.
Die absolute Wirksamkeit eines Präparates läßt sich nach NEIPP und Mitarbeitern (33) sowie NEIPP und MAYER (32) erst durch das "Blutkonzentration - Zeit - Produkt" ermitteln, da nicht der Blutspiegel allein, sondern in Verbindung mit der Einwirkungsdauer ausschlaggebend ist. So kann ein Pharmakon mit niedriger Blutkonzentration, die aber für längere Zeit aufrechterhalten wird, den gleichen chemotherapeutischen Effekt hervorrufen, wie eines mit hohem, aber nur kurzfristig einwirkendem Blutspiegel. Sie fanden z. B. für Sulfaphenazol (Orisul (R)) 100 %ige Heilwirkungen bereits bei einem Blutspiegel von 3 mg% und 75 %ige Heilwirkungen bei 2 mg% und kommen zu dem Schluß, daß nicht eine für alle Sulfonamide geltende fixierte Blutkonzentration die chemotherapeutische Wirkung bestimmt, sondern daß für die einzelnen Sulfonamide individuelle Schwellenkonzentrationen vorliegen.

Es ist somit äußerst schwierig, einen Grenzwert im Hinblick auf eine therapeutische Wirksamkeit festzulegen. Die eigenen Versuche beschränkten sich deshalb darauf, zu prüfen, wie sich beim Hund der Blutspiegel von Ro 4-4393, das nach verschiedenen Gesichtspunkten appliziert wurde, verhält.

Es wurden zunächst Vorversuche durchgeführt, um nach verschieden hohen einmaligen Gaben bei Hunden unterschiedlicher Rasse, verschiedenen Alters und Geschlechts die Höhe des Plasmablutspiegels und die

Elimination festzustellen. Die Tiere erhielten einmalige Applikationen von 100, 50, 40 oder 30 mg/kg Kgw. intravenös, subcutan oder peroral. Schon bei dem 1. Vorversuch, Gruppe A 1 (Tab. 5, Abb. 2), bei dem 3 Altersstufen herangezogen wurden, fällt nach der Injektion von 100 mg/kg Kgw. i.v. eine unterschiedliche Ausscheidung zwischen dem 14jährigen, dem 4jährigen und dem 5 1/2 Monate alten Tier auf. Während der alte Hund am 7. Tag noch 11,2 mg% Sulfonamidkonzentration vorweisen kann, ist bei dem 4jährigen die Elimination bis auf einen Wert von 1,8 mg% und bei dem Jungtier bis auf 0,4 mg% fortgeschritten. Auch die Höchstwerte 10 min. post inj. zeigen bereits ein anderes Niveau, da der alte Hund einen Höchstwert von 40,8 mg%, der 4jährige von 27,8 mg% und der jüngste von 25 mg% vorzuweisen haben, was auch in der Berechnung der HWZ zum Ausdruck kommt.

Diese Beobachtungen wiederholen sich bei dem 2. Vorversuch A 2, (Tab. 6), bei dem die gleiche Dosierung, jedoch eine andere Applikationsart, nämlich die subcutane Injektion, vorgezogen wurde. Hohe Werte wurden schon nach 1 - 2 Stunden post inj. festgestellt, so daß es sicher nur in sehr dringenden Fällen nötig sein wird, von der intravenösen Gabe Gebrauch zu machen, zumal in der Veterinärmedizin unter schwierigen Umständen eine subcutane Injektion einfacher durchzuführen sein wird.

Auch hier fällt analog zum 1. Vorversuch die schnelle Ausscheidung bei dem Jungtier auf.

Betrachtet man den 24- und 48-Stundenwert in der Gruppe A 3 (Tab. 7, einmalige Gabe von 50 mg/kg Kgw. s.c. und in einem Falle peroral), so tritt unabhängig davon, daß die Dosis um 50 % herabgesetzt wurde, dasselbe Phänomen zutage, daß eine gewisse Diskrepanz in den verschiedenen Altersgruppen auffällt.

Bei vier jungen oder noch nicht ausgewachsenen Tieren (Nr. 22, 25, 28, 29) liegen nach 24 Stunden die Plasmakonzentrationen am niedrigsten und haben nach 48 Stunden bereits Grenzwerte erreicht bzw. weisen, wie in 2 Fällen (Nr. 28 und 29), keinen "therapeutischen Blutspiegel" mehr auf.

Da in der Gruppe A 4 (Tab. 8) nur mit erwachsenen Tieren, zwischen 2 und 12 Jahren, gearbeitet wurde, finden sich, wie aufgrund vorangegangener Beobachtungen erwartet werden konnte, ausgeglichenere Werte und 72 Stunden nach einer Initialdosis von 40 mg/kg Kgw. Blutkonzentrationen, die über der von vielen Autoren geforderten Höhe von 5 mg% liegen.

In der letzten Gruppe der Vorversuche (A 5, Tab. 9) wurde die Initialdosis aufgrund der bei der Gruppe A 4 gemachten Beobachtungen wiederum herabgesetzt und zwar auf 30 mg/kg Kgw. Als Versuchstiere dienten ein 7jähriger und ein 1 1/2jähriger Schäferhund. Bei Messung der Blutkonzentration nach 24 Stunden zeigte der ältere Hund einen um rd. 3 mg% höher liegenden Wert. Diese Differenz bleibt auch weiter bestehen, so daß nach 72 Stunden für Hund Nr. 34 (7 Jahre alt) noch eine Konzentration von 4,2 mg%, dagegen für den jüngeren, Nr. 35,

nur noch von 1,6 mg% nachweisbar ist.

Bei einer Betrachtung der Hauptversuche, die sich vor allem mit dem Plasmaspiegel nach Initial- und Erhaltungsdosen befassen, fällt schon im Versuch 1 (Gruppe B 1, Abb. 3) das Phänomen der Kumulation auf. Die Plasmawerte steigen, gemessen jeweils 24 Stunden post inj. von 16,7; 20,4; 16,8 auf 22,0 mg% bei Versuchshund Nr. 4 und von 18,3; 25,0; 26,8 auf 30,8 mg% bei Versuchstier Nr. 5.

Der kumulative Verlauf dieser Kurven läßt eine offensichtlich zu hohe Dosierung in bezug auf Menge und Intervall erkennen. Dosierungsfehler, die zur Kumulation führen, sind, wie eingangs bereits erwähnt, nach KRÜGER-THIEMER und BÜNGER (26)

a) Fehler des Dosisverhältnisses (Initialdosis - Erhaltungsdosis)
b) Fehler des Dosierungsintervalls (Zeit)
c) Fehler der relativen Erhaltungsdosis (mg/kg).

Anders sieht es schon in Gruppe B 2 (Abb. Nr. 4) aus, in der 2 erwachsene Tiere, 13 und 8 Jahre alt, die gleichhohe Erhaltungsdosis (100 mg/kg Kgw.) einen Tag später als im Versuch B 1, also am 4. Tage, erhielten. Der Plasmawert, der am Tage der 1. Nachdosierung 18,1 bzw. 12,8 mg% betrug, stieg auf 40,3 bzw. 29,4 mg%. Da diese Werte über die gewünschten hinausgehen, wurden die nächsten zwei Erhaltungsdosen nunmehr um 50 % herabgesetzt, wodurch der Verlauf der Kurve sofort eine abfallende Tendenz zeigt.
Daraus ist zu entnehmen, daß eine Kumulation bei richtiger Dosierung vermeidbar ist. In diesem Falle war das Dosisverhältnis ID - ED bei der ersten Nachdosierung zu hoch gewählt, auch das Dosierungsintervall scheint zu kurz angesetzt, denn am 12. Tag beträgt der Plasmaspiegel für Hund Nr. 7 immer noch 11,0 mg%.

In der Annahme, daß sich bei Herabsetzen der Erhaltungsdosis unter die Initialdosis eine Kumulation vermeiden lasse, erhielten die Gruppen B 3 und B 4 in zwei verschiedenen Dosierungsintervallen (Abb. Nr. 5 + 6) 70 % der Initialdosis als Erhaltungsdosis. Die ermittelten Plasmawerte (Tab. Nr. 13) zeigen bei Hund Nr. 8 am Tage nach der 1. Nachdosierung eine Steigerung von 16,8 auf 29,2 mg%, obwohl die Erhaltungsdosis unter der Initialdosis lag. Dann blieb die Kurve annähernd konstant mit den höchsten Werten um 30 mg%.
Ähnlich verhalten sich die Werte bei Hund Nr. 9 (Tab. Nr. 14), obwohl das Dosierungsintervall bei ihm größer war. Demnach erscheint eine Erhaltungsdosis von 70 mg/kg Kgw., gleichgültig ob im 2- oder 3tägigen Intervall gegeben, zu hoch. In der Gruppe B 5 wurden jugendliche Hunde verschiedenen Alters zusammengefaßt, die eine Initialdosis von 100 mg/kg Kgw. und eine Erhaltungsdosis von 50 mg/kg Kgw. in 2tägigem Intervall erhielten.
In dieser Gruppe fällt wiederum auf, daß die jungen Tiere nach einer Initialdosis von 100 mg/kg Kgw. einen weniger hohen Anfangsspiegel haben als die älteren Hunde der anderen Gruppe.
Ferner ist zu bemerken, daß bei dem jüngsten Tier, dem 11 Wochen

alten Schäferhund, trotz laufender Nachdosierung, der Sulfonamidspiegel bedeutend schneller absinkt als bei den anderen 3 Tieren.

Betrachtet man vergleichend die Gruppe B 6 mit B 5, so ist ersichtlich, daß die Gruppe B 6 bei gleicher Dosierung aber größerem Intervall höhere Konzentrationen aufweist, was wohl sicher auf die höhere Altersstufe zurückzuführen ist, da die Hunde dieser Gruppe älter, zum Teil sogar sehr alt, waren. Alle Werte liegen so hoch, daß für diese Altersstufe vermutlich niedrigere Dosen gewählt werden können.

Die Ergebnisse der Gruppe B 7 entsprechen denen der Gruppe B 6, obwohl die Nachdosierung per os erfolgte. Bei Hund Nr. 19 lassen sich extreme Höhen erkennen, die nicht erklärt werden können. Außer einer starken Adipositas erschien das Tier klinisch unauffällig. Ob die Adipositas hiermit in Zusammenhang steht, ist schwer zu ermessen. EGGER (13) hält es für möglich, daß sich pathologische Zustände der Gewebszusammensetzung wie z. B. schwere Formen von Adipositas auf den Sulfonamidspiegel auswirken können.

Die Tiere der Gruppe B 8 bekamen als Initialdosis und Erhaltungsdosis die gleichen Mengen Ro 4-4393, wie die der Gruppe B 7 (ID 100 mg/kg Kgw., ED 50 mg/kg Kgw.), wobei das Dosierungsintervall um einen Tag verlängert wurde. Diese Gruppe war in bezug auf Alterszusammensetzung sehr inhomogen. Bei beiden jüngeren Hunden, insbesondere dem 11 Monate alten Bedlington-Terrier, sanken die Blutspiegel innerhalb 60 Stunden z. T. unter 1 mg% ab. Es kann angenommen werden, daß für jugendliche Hunde dieses Dosierungsschema nicht geeignet ist.

Eine Initialdosis von 100 mg/kg Kgw. ergab in allen bisherigen Untersuchungen nach 24 Stunden Blutspiegel von 15 mg% und mehr, darum wurde in Gruppe B 9 die Initialdosis auf 50 mg/kg Kgw. herabgesetzt und die Erhaltungsdosis in gleicher Menge in 2tägigem Abstand appliziert. Wiederum hatte der jüngste Hund der Gruppe, Nr. 25, ein 6 Monate altes Tier, die niedrigsten Werte aufzuweisen. Gleichwohl war bei ihm wie auch bei den anderen Mitgliedern dieser Gruppe eine Kumulation zu erkennen. Sie erklärt sich vermutlich daraus, daß bei den Nachdosierungen die Sulfonamidmenge noch nicht genügend ausgeschieden war.

In einer weiteren Versuchsreihe, Gruppe B 10, wurde dieser Versuch insofern modifiziert, als das Dosierungsintervall um einen Tag verlängert wurde. Hier tritt erneut in besonders prägnanter Weise zutage, wie unterschiedlich sich jugendliche zu älteren Hunden verhalten. Während bei den älteren immer noch ein kumulativer Effekt zu erkennen ist, reicht bei den jüngeren Hunden diese Form der Medikation nicht aus. In den Zwischenphasen war zeitweilig überhaupt kein Sulfonamid mehr nachweisbar.

Für die Gruppe B 11 wurde die noch niedrigere Initialdosis von 40 mg/kg Kgw. gewählt und eine dazugehörige Erhaltungsdosis von 20 mg% mit einem Dosisintervall von 3 Tagen (Abb. 13). Die Ergebnisse dieser Untersuchungsreihe stimmen mit Beobachtungen beim

Menschen überein, wonach bei erwachsenen Individuen im Gegensatz zu jungendlichen niedrigere Dosen äquivalente Blutspiegelergebnisse hervorrufen. Auffällig ist, daß die Plasmawerte am 13. und 16. Tag bei Hund Nr. 31 unter 2 mg% absinken. Mangels klinischer Erfahrung kann hier nicht diskutiert werden, ob das von NEIPP und Mitarbeitern (33) postulierte "Blutkonzentration - Zeit - Produkt" in diesen Konzentrationsbereichen beim Hund einen therapeutischen Effekt erwarten läßt.

Das gilt auch für die Gruppe B 12 (Abb. Nr. 14), bei der Initialdosis und Erhaltungsdosis (30 mg/kg Kgw.) gleichhoch gewählt wurden. Hier konnten die Plasmakonzentrationen relativ konstant gehalten werden, wenn auch bei dem jungen Hund Nr. 35 in recht niedrigen Bereichen.

Bei den vorliegenden Untersuchungen wurde das Sulfonamid Ro 4-4393 unabhängig vom Alter der Hunde dosiert. Diese Verfahrensweise scheint aber nicht zweckmäßig zu sein, da, wie die Untersuchungsergebnisse ausgewiesen haben, junge Hunde einen wesentlich niedrigeren Plasmaspiegel als die erwachsenen zeigen.

Diese Abhängigkeit der Blutkonzentration vom Alter der Hunde stimmt in bemerkenswerter Weise mit den Verhältnissen beim Menschen überein.

KEYSER (23) berichtet bereits 1942, daß er, um durch eine Sulfonamidgabe gleich hohe Blutkonzentrationen zu erhalten, beim Säugling eine Dosis von 175 - 200 mg/kg Kgw. und Tag, dagegen beim Schulkind eine Dosis von 100 - 140 mg/kg Kgw. anwenden muß. Er schließt daraus, daß der höhere Wasserreichtum des Säuglingsorganismus, und zwar innerhalb und außerhalb des Blutkreislaufs, bei gleicher Dosierung relativ niedrigere Blutkonzentrationen bedingt. EGGER (13) glaubt eine Erklärung darin zu sehen, daß der relativ größere Anteil der parenchymentösen Organe des Säuglingsorganismus gegenüber einem geringeren Anteil an chemisch-physikalisch inaktivem Gewebe eine stärkere Gewebsabwanderung und damit niedrigere Blutkonzentrationen bedingt.

DOST (10) ist der Ansicht, daß die Verteilungsquotienten beim Säugling niedriger liegen als beim Erwachsenen, wie er bei vergleichenden Untersuchungen mit Sulfathiocarbamid feststellte.

Da sich die Angaben der Verteilungsquotienten zwischen Blut und Gewebe nur auf einzelne Organe beziehen, möchte sie SCHÖNFELD (38) erfaßt wissen aus dem Quotienten Blut: extravasaler Raum, um Fehlerquellen auszuschließen, die durch mangelhafte Durchblutung entstehen können. Beim Säugling benötigte er gegenüber dem Erwachsenen etwa die 2 - 3fachen Dosen und meint, daß diese relativ großen Gaben notwendig werden, um beim Säugling aufgrund der niedrigen Diffusion in die extravasalen Räume ausreichende Gewebespiegel zu erhalten.

GLADTKE (17) stellt bei seinen Untersuchungen mit 3 Sulfonamiden an Säuglingen und größeren Kindern fest, daß zur Erreichung des gleichen Sulfonamidspiegels im Interstitium die Dosen für Säuglinge das 1,4 - 1,7fache der Dosen für größere Kinder betragen müssen. DOST,

GLADTKE und RIND (11) fordern anhand ihrer experimentellen Untersuchungen für das Sulfadimethoxin zur Erzielung gleicher Spiegel im Gewebsinterstitium bei Säuglingen eine etwa 25 - 40 % höhere Dosis als für Kinder über 2 Jahre.

RENTSCH (35) findet eine Diskrepanz der Sulfonamidkonzentration im Blutplasma bei gleicher Dosierung bei Säuglingen unter 10 kg Kgw. und Kindern mit mehr als 10 kg Kgw. und führt diese auf die größere Körperoberfläche beim Säugling zurück. Daraus ergibt sich, daß dieser eine etwas höhere Dosierung benötigt.

SAKUMA und Mitarbeiter (36) betonen ebenfalls, daß man bei Kindern im Gegensatz zu Erwachsenen nicht nach der herkömmlichen Art die Dosierung auf kg/Kgw. beziehen kann; sie dosieren vielmehr bei Kindern in Relation auf die Körperoberfläche und unterscheiden in ihren Versuchen zwei Altersgruppen: Kinder von 3 Monaten bis 12 Jahren und Erwachsene von 16 bis 76 Jahren. Sie erreichten mit einer Gabe von 0,5 g pro m^2 Körperoberfläche mit Sulfadimethoxin (Madribon $^{(R)}$) einen therapeutisch tüchtigen Blutspiegel, (der zwischen 6 und 8 mg% angegeben wird) innerhalb 2 - 6 Stunden und konnten ihn 8 - 9 Stunden aufrechterhalten.

Die auffällig beschleunigte Ausscheidung beim jugendlichen Hund entspricht den Erkenntnissen, die am Säugling gewonnen wurden. Bei dem Versuch einer Erklärung könnten wohl auch die andersgearteten Ausscheidungsverhältnisse des jugendlichen Organismus gegenüber dem älteren als Ursache der schnelleren Elimination mit herangezogen werden. Diese beschleunigte Elimination kommt auch zum Ausdruck bei der Berechnung der Halbwertzeit. Die Voruntersuchungen ließen offensichtlich Unterschiede im Kurvenverlauf erkennen, der bei jungen Hunden bei gleicher einmaliger Dosierung ein beschleunigtes Absinken zeigte. Die HWZ für den jungen, 5 1/2 Monate alten, Hund betrug 21 Stunden, 40 min., gegenüber dem 14jährigen mit 78 Stunden, 34 min., und dem 4jährigen mit 36 Stunden, 1 min.

Soweit das veterinärmedizinische Schrifttum übersehen wird, ist bisher nicht darauf hingewiesen worden, daß sich bei jungen Hunden der Sulfonamidspiegel anders verhält als bei alten.

Bei 3 Hunden (Nr. 8, 9 und 15, Tab. 23) wurde das Sulfonamid außer im Plasma auch im Vollblut bestimmt. Die gefundenen Werte für Vollblut liegen erwartungsgemäß unter denen des Plasmas. Das bedeutet, daß eine Bindung des Sulfonamids an Erythrocyten äußerst gering sein muß (WÖHLER und SPECKMANN (47), HECHT und Mitarbeiter (20)). Diese geringe Erythrocytenaffinität bedingt auch eine geringere Toxizität (Gefahr der Zyanose und Innenkörperbildung).

Vorliegende Untersuchungen an 35 Hunden lassen demnach die Schlußfolgerung zu, daß das geprüfte Sulfonamid Ro 4-4393 auch beim Hund bei genügend hoher Dosierung die Wirkung eines Langzeit-Sulfonamids besitzt, wenn man die Zuordnung zu dieser Klasse von der Forderung abhängig macht, daß die Eliminationshalbwertzeit mehr als 20 Stunden betragen soll.

Das Präparat weist eine gute lokale Verträglichkeit auf; Nebenwirkungen wurden im Verlaufe dieser Untersuchungen nicht festgestellt, selbst dann nicht, wenn Blutspiegelkonzentrationen über 40 mg% ermittelt wurden.
Wenn auch Blutspiegelwerte, wie schon ausgeführt, keinen Rückschluß auf chemotherapeutische Wirkung eines Sulfonamids erlauben, und es nach den experimentellen Erfahrungen von KNOTT und Mitarbeitern (25) nicht vertretbar erscheint, bei allen Sulfonamiden ab einer bestimmten, von vornherein fixierten Serum- bzw. Plasma-Konzentration von einem "therapeutisch wirksamen Spiegel im Blut" zu sprechen, muß diese vorerst als Anhaltspunkt für die am Patienten anzuwendende Dosierung dienen.

Bei allen herkömmlichen Sulfonamiden einschließlich der Langzeitsulfonamide war eine tägliche Medikation unerläßlich. So schlägt z. B. ULLRICH (43) aufgrund seiner Untersuchungen am Hund für das Sulfadimethoxin (Madribon (R)) tägliche Gaben von 100 mg/kg Kgw. vor. Das hier untersuchte Langzeit-Sulfonamid Ro 4-4393 weist demgegenüber eindeutig länger anhaltende Plasmawerte auf, so daß bei richtiger Wahl der Initial- und Erhaltungsdosen eine tägliche Applikation nicht notwendig ist.

Die Versuche zeigen, daß in Analogie zu den Verhältnissen beim Säugling und Kleinkind jugendliche Hunde höhere Sulfonamiddosen zur Erzielung einer äquivalenten Blutkonzentration benötigen als erwachsene.

Unter Berücksichtigung dieser Verhältnisse können folgende Dosierungen vorgeschlagen werden:
Eine Initialdosis von 40 mg/kg Kgw. mit einer Erhaltungsdosis von 20 mg/kg Kgw. alle 3 Tage dürfte für erwachsene Hunde ausreichend sein. Für nicht ausgewachsene Tiere, wobei bei Hunden großer Rassen 1 1/2 Jahre als Grenzwert angesehen werden sollten, ist eine Dosierung von 100 mg/kg Kgw. als Initialdosis und 50 mg/kg Kgw. als Erhaltungsdosis jeden 3. Tag, bei sehr jungen Tieren (unter 3 Monaten) jeden 2. Tag zu empfehlen. Auch könnte eine Dosis von 50 mg/kg Kgw. als Initialdosis bei gleichhoher Erhaltungsdosis, jeden 2. Tag gegeben, als ausreichend gelten.
Die Initialdosis sollte parenteral gegeben werden. Die subcutane Injektion genügt vollauf und ist bei Anwendung der 25 %igen Lösung auch bei größeren Mengen gut verträglich. Die Erhaltungsdosis kann parenteral oder peroral appliziert werden.

Diese Dosierungsvorschläge mögen als Anhaltspunkt dienen für die Prüfung des Sulfonamids am Patienten, wobei abschließend daran erinnert werden soll, daß diese Untersuchungen überwiegend an klinisch gesunden Hunden durchgeführt wurden, und daß bestimmte pathologische Zustände die Resorption, Verteilung im Organismus, Wirksamkeit und Ausscheidung beeinflussen können.

F Zusammenfassung

Einleitend werden die Langzeitsulfonamide besprochen und die wesentlichen Unterschiede zu den herkömmlichen - den Kurz- und Mittelzeitsulfonamiden - herausgestellt.

Nach Beschreibung der methodischen Arbeitsgänge wurde die Eichkurve für Ro 4-4393 aufgestellt.

Bei 35 überwiegend klinisch gesunden Hunden wurden 503 Blutspiegelmessungen und zwar 471 Blutplasma- und 32 Vollblutdoppelbestimmungen nach Applikation des noch nicht im Verkehr befindlichen Langzeitsulfonamids Ro 4-4393 (4 - Sulfanilamido - 5,6 - dimethoxypyrimidin) vorgenommen. Bei der Untersuchung kam die modifizierte Bratton-Marshall-Methode zur Anwendung.

Zunächst wurde der Blutplasmaspiegel in fünf Vorversuchen (A 1 - 5) nach einmaliger Verabreichung bei unterschiedlichen Dosen und Applikationsformen ermittelt. Hier zeigten sich bereits Unterschiede in der Höhe der Blutkonzentration bei jungen und alten Tieren.

In 12 Hauptversuchen (B 1 - 12) wurde dann der Verlauf der Plasmakonzentration nach unterschiedlichen Initial- und Erhaltungsdosen und differierenden Applikationsarten an Hunden im Alter von 11 Wochen bis 13 Jahren verfolgt.

Durch die Berechnung der Eliminationskonstanten und der Halbwertzeit (HWZ) wird die Zugehörigkeit des Sulfonamids Ro 4-4393 zu den langwirkenden Sulfonamiden, bei denen eine HWZ von 20 Stunden und mehr vorausgesetzt wird, bestätigt.

Die Halbwertzeit betrug bei 3 Hunden verschiedenen Alters nach einer Gabe von 100 mg/kg Kgw. i.v. für

Hund (Nr. 1) 14 Jahre alt: 78 Std., 34 min.
Hund (Nr. 2) 4 Jahre alt: 36 Std., 1 min.
Hund (Nr. 3) 5 1/2 Mon. alt: 21 Std., 40 min.

während nach Applikation von 40 mg/kg Kgw. s.c. bei

Hund (Nr. 30) 12 Jahre alt: 42 Std., 31 min.

errechnet wurden.

Der Verlauf der Plasmaspiegelkurven und die Eliminationshalbwertzeiten lassen erkennen, daß jüngste und junge Hunde bis zu einem Alter von etwa 1 1/2 Jahren parallel zu den Verhältnissen beim Säugling und Kleinkind eine wesentlich kürzere Eliminationszeit haben als ältere.

Im übersehbaren veterinärmedizinischen Schrifttum ist bisher auf die altersabhängige Eliminationsgeschwindigkeit beim Hund nicht hingewiesen worden.

Eine Kumulation konnte in einer Reihe von Fällen, besonders bei älteren Tieren beobachtet werden. Sie ist zu vermeiden bei Beachtung der Höhe der Erhaltungsdosis zur Initialdosis - sie darf nie höher sein - sowie der zeitlichen Folge der Verabreichungen.

Das Präparat ist unabhängig von der Applikationsart sehr gut verträglich.

Toxische Nebenwirkungen konnten selbst bei sehr hohen Blutspiegelwerten (über 40 mg%) nicht beobachtet werden. Der Höchstblutspiegel wird nach intravenöser Applikation in 10 Minuten erreicht, jedoch sind auch bei subcutaner Injektion bereits nach 2 Stunden günstige Blutspiegel nachzuweisen. Es wird nur in dringenden Fällen notwendig sein, von einer intravenösen Verabreichung Gebrauch zu machen.

Wegen der unterschiedlichen Eliminationsgeschwindigkeiten erscheint es zweckmäßig, bei jugendlichen und erwachsenen Hunden verschiedene Initial- und Erhaltungsdosen und Dosierungsintervalle vorzuschlagen.

Aufgrund der ermittelten Blutplasmakonzentrationen kann folgende Dosierung empfohlen werden:

Für erwachsene Hunde eine Initialdosis von 40 mg/kg Kgw.
und eine Erhaltungsdosis von 20 mg/kg Kgw.,
im 3tägigen Intervall appliziert,

für jugendliche Hunde eine Initialdosis von 100 mg/kg Kgw.
(bei großen Rassen bis zu einem Alter von 1 1/2 Jahren) und eine Erhaltungsdosis von 50 mg/kg Kgw.
jeden 3. Tag, für Hunde bis zu 3 Monaten
jeden 2. Tag verabreicht.
Auch könnte eine Initialdosis von 50 mg/kg Kgw.
bei gleichhoher Erhaltungsdosis,
jeden 2. Tag gegeben, als ausreichend gelten.

Die Initialdosis sollte parenteral gegeben werden. Die subcutane Injektion genügt vollauf und ist bei Anwendung der 25 %igen Lösung auch bei größeren Mengen gut verträglich. Die Erhaltungsdosis kann parenteral oder peroral appliziert werden.

E Literatur

1. Boger, W. P., Stickland, C. S. and J. M. Gylfe
   S. M. P. (Kynex) a new longacting Sulfonamide
   Antib. Med. and Clin. Ther. 3, 378, (1956)

2. Bolle, W. unter Mitarbeit von Broeg, U., Jakobi, G., Meerkamp, R. und H. Buschkiel
   Untersuchungen über den Gehalt an Sulfonamiden im Blut von Haustieren nach Verabreichung von Baludon, Eleudron und Supronal
   Vet. med. Nachr. "Bayer" 49, (1952)

3. Brown, Thornton and Wilson
   J. Clin. Invest. 18, 803 (1939) zit. nach Nr. 13

3a. Bünger, P., Isebarth, R., Kiessling, J., Voss, G. und R. Witthöft
   Zur Sulfanilamidbehandlung schwerer bakterieller Infektionen
   Dtsch. Arch. f. klin. Med. 209, 608 (1964)

4. Burkhart, R. L., Schroeder, C. M., Welsh, M. und F. H. Langer
   Sulfamethazine Blood Concentration in Dogs and Cats
   J. Am. Vet. med. Assoc. 113, 576 (1948)

5. Davis, B. D.
   Binding of Sulfonamides to plasma proteins
   Science 95, 78 (1942)

6. Denning, H. und H. Waltz
   Chemotherapie mit einem neuen, langwirkenden Sulfonamid
   Med. Klinik 53, 419, (1958)

7. Dettli, E.
   Konzentrationbegriff in der Chemotherapie mit Sulfonamiden
   Arzneimittelforsch. 11, 861 (1961)

8. Domagk, G.
   Die Entwicklung der Chemotherapie in den letzten 25 Jahren und Ausblick in die Zukunft
   Münch. med. Wschr. 100, 16 (1958)

9. Domagk, G.
Sulfonamide, einst und jetzt
Arzneimittelforsch.
11, Sonderdruck (1961)

10. Dost, F. H.
Der Blutspiegel
Kinetik der Konzentrationsabläufe in der Kreislaufflüssigkeit
Verl. G. Thieme, Leipzig
S. 127, (1953)

11. Dost, F. H., Gladtke, E. und H. Rind
Untersuchungen zur Frage der altersabhängigen Beziehung zwischen Dosis und Wirkung am Beispiel des Chemotherapeuticums Sulfadimethoxin (Madribon (R))
Mschr. f. Kinderhkde.
110, 259 (1962)

12. Druey, J. und G. Oesterheld
Zur Bestimmung des Cibazols und anderer Sulfonamide.
Helv. Chim. Acta
25, 753 (1942)

13. Egger, Paul
Die Verteilung der Sulfonamide im Organismus
Verl. Benno Schwabe & Co.
Basel, (1946)

14. Fust, B. and E. Böhni
Tolerance and antibacterial properties of 2,4-dimethoxy-6-sulfanilamido-1,3-diazine (Madribon)
Antibiot. Med.
6, 3, (1959)

15. Fust, B. und E. Böhni
Vergleichende experimentelle Untersuchungen mit 5-Methyl-3-Sulfanilamido-isoxazol, anderen Sulfonamiden und Antibiotika
Schweiz. Med. Wschr.
92, 1599 (1962)

16. Garn, F. W. und K. H. Kimbel
Verbleib und Ausscheidung von Depot-Sulfonamiden, 1. Mitteilg. Arzneimittelforsch.
11, 701 (1961)

17. Gladtke, E.
Die Abhängigkeit der Dosis vom Lebensalter bei Kindern (Vergleichende Untersuchungen bei drei Sulfoxazolen)
Arch. Kinderhkde. 2, 133 (1963)

18. Gsell, O.
Neuere Sulfonamide in ihrer antiinfektiösen Wirkung
Therapiewoche 18, 804 (1962)

19. Gsell, O.
zit. nach Nr. 13

20. Hecht, G., Junkermann, K., Langecker, H., Gloxhuber, Ch., Harwart, A. und S. Wirtz
Pharmakologie des 2-Sulfanilamido-5-methoxypyrimidins
Arzneimittelforsch. 11, 695 (1961)

21. Hoffmann-La Roche, & Co. A. G., Basel
Unterlagen für die veterinärmedizinische Prüfung des Chemotherapeuticums Ro 4-4393 (1964)

22. Hoffmann-La Roche, & Co. A. G., Basel
Anleitung zur Bestimmung von Sulfonamiden in Blut und Urin (1959)

23. Keyser, E.
Schwankungen der Blutkonzentrationen bei der Chemotherapie
Mschr. Kinderhkde. 90, 224 (1942)

24. Kimbel, K. H. und F. W. Garn
Verbleib und Ausscheidung von Depot-Sulfonamiden, 2. Mitteilg.
Arzneimittelforsch. 11, 695 (1961)

25. Knott, Th., Kutzsche, A. und A. M. Walter
Antibakterielle Wirksamkeit des 2-Sulfanilamido-5-methoxy-pyrimidins
Arzneimittelforsch. 11, 683 (1961)

26. Krüger-Thiemer, E. und P. Bünger
Kumulation und Toxizität bei falscher Dosierung von Sulfanilamiden
Arzneimittelforsch. 11, 867 (1961)

27. Lagier, J., Wackenthaler, D. et P. Rentchnik
La Sulfadiméthoxine (Madribon)
Méd. Hyg. 16, 297 (1959)

28. Litchfield, J. T. jr.
Properties of a new antibacterial sulfonamide, Kynex, 3-sulfanilamido-6-methoxypyridazine
XX. Int. Physiol. Congr. Brüssel (1956)

29. Long, P. H.
Current usage of sulfonamides in the treatment of infections in adult patients.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 69, 385 (1957)

30. Lüdecke, F.
Untersuchungen über Blutspiegel und Verträglichkeit von Sulfamethylphenazol bei Pferden nach intravenöser Applikation
Vet. med. Diss. F.U. Berlin (1963)

31. Marshall, E. K. jr.
Acetylation of sulfonamides in the dog
J. Biol. Chem. 211, 499 (1954)

32. Neipp, L. und R. L. Mayer
Experimental activities of new sulfonamides
Ann. N. Y. Sc. Acad. 69, 448 (1957)

33. Neipp, L., Padowetz, W., Sackmann, W. und J. Tripod
Erfahrungen mit Präparaten. Experimentelle Untersuchungen über neue Sulfonamide unter besonderer Berücksichtigung der Beziehung zwischen Blutkonzentration, Intensität und Dauer der Heilwirkung
Schweiz. med. Wschr. 88, 835 (1958)

34. Reed, L. J. und H. Muench
Simple methods of estimating 50 percent endpoints
J. Am. Hyg. 27, 493 (1938)

35. Rentsch, M.

Experimentelle Studien mit Sulfodimethoxin (Madribon) in der Pädiatrie

Schweiz. med. Wschr.
9, 220 (1960)

36. Sakuma, T., Daeschner, C. W. and M. Y. Ellard

Studies on the absorption, distribution, excretion and use of a new long-acting sulfonamide (Sulfadimethoxine) in children and in adults.

Am. J. Med. Sci.
239, 142, (1960)

37. Schnitzer, R. J. und W. F. De Lorenzo

Influence of p-Aminobenzoid acid on the chemotherapeutic activity of Sulfadimethoxine (Madribon (R))

Antibiot. Med.
6, 17, (1959)

38. Schönfeld, H.

Resorption, Verteilung und Ausscheidung neuerer Sulfonamide beim Säugling

Chemotherapia
4, 8, (1962)

39. Scholtan, W.

Die Bindung der Langzeit-Sulfonamide an die Eiweißkörper des Serums. 2. Mitteilg.

Arzneimittelforsch.
11, 707, (1961)

40. Sinell, H. J.

Mündliche Mitteilung (1963)

41. Stobbe, H.

Haematologischer Atlas

Akademie Verl. Berlin
2. Aufl. (1960)

42. Townsend, E. H. and A. Borgstedt

Antibiotics

Ann. N. Y. Encycl. Inc.
S. 64 (1959)

43. Ullrich, W.

Blutspiegelbestimmungen mit dem Sulfonamid Ro 4-0517 (Sulfadimethoxin)

Wien. tierärztl. Mschr.
5, 529 (1963)

44. Walter, A. M.
Bakteriostatische Wirksamkeit und Pharmakodynamik der neuen Sulfonamide.
Antibiotika et Chemotherapia
8, 54, (1960)

45. Welsh, M., Schroeder, C.R., Vroman, D. F., Reddin, L., Burkhart, R. and P. Langer
The Fate of 1/2 Gr. Lb. Body Weight of 7 Sulfonamides in 7 Animal Species
Proc. U. S. Livestock Sanitary Assoc.
L. Ann. Meeting Dec. (1946)

46. Witzgall, H.
30 Jahre Sulfonamide
Z. ärztl. Fortbildg.
3, 197, (1964)

47. Wöhler, F. und L. Speckmann
Über Eiweißbindung, Blut-, Liquor- und Gewebsspiegel neuer Sulfonamide
Arzneimittelforsch.
10, 859 (1960)

Es ist mir ein aufrichtiges Bedürfnis, Herrn Prof. Dr. Lucas Felix Müller, Direktor der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere der Freien Universität Berlin, für die Überlassung des Themas und die Einräumung eines Arbeitsplatzes sowie eines Teils des verwendeten Tiermaterials verbindlichst zu danken.

Mein Dank gilt gleichermaßen Frau Priv. -Dozentin Dr. Ellen Lettow für die wertvollen Hinweise zur praktischen Durchführung und die allzeit gewährte Unterstützung.

Dank schulde ich auch der Deutschen Hoffmann-La Roche A. G. Grenzach, für die Zurverfügungstellung des Versuchspräparates Ro 4-4393, sowie der Forschungsabteilung der Hoffmann-La Roche A. G. in Basel für die wissenschaftliche Beratung.

Lebenslauf

Am 24. V. 1924 wurde ich, Ruth Susanna Gerriets, geb. Neuling als Tochter des Chemikers und Inhabers der "Chem. Fabrik und Mineralöl-Raffinerie Paul Neuling" in Berlin-Rudow, Paul Neuling, in Berlin-Kreuzberg geboren.

Meine Schulzeit verlebte ich in Berlin und verließ am 25. III. 1942 die Hansa-Oberschule mit dem Zeugnis der Reife.

Anschließend leistete ich den Arbeitsdienst und ein halbes Jahr Kriegshilfsdienst als Schulhelferin in Ostpreußen ab.

Am 28. IV. 1943 wurde ich an der Math. -Nat. Fakultät der Friedrich-Wilhelms-Universität Berlin immatrikuliert. Nach dem 3-semestrigen Studium der Chemie mußte ich infolge Kriegsbestimmungen das Studium abbrechen, um in einem Berliner Rüstungsbetrieb als Kriegsdienstverpflichtete tätig zu sein.

Im Februar 1946 wurde ich an der Vet. -med. Fakultät der Universität Berlin immatrikuliert. Unter Anrechnung eines Semesters meines naturwissenschaftlichen Studiums legte ich am 29. VIII. 1947 die tierärztliche Vorprüfung und nach weiteren 5 Semestern am 26. II. 1951 die tierärztliche Staatsprüfung ab. Am 1. IX. 1951 erhielt ich die Approbation.

Während meines Studiums war ich von 1946 bis 1949 in der studentischen Selbstverwaltung tätig und in der Wahlperiode 1948/49 Mitglied des Fakultätsrates der Vet. -med. Fakultät der Humboldt-Universität zu Berlin.

Am 14. VIII. 1948 ging ich die Ehe mit Prof. Dr. med. vet. Edzard Gerriets, dem ehemaligen Direktor des Instituts und der Klinik für Geflügelkrankheiten der Humboldt-Universität zu Berlin, ein.

Ich bin Mutter von zwei Söhnen im Alter von 15 und 9 Jahren.

Seit 1951 habe ich eine Kleintierpraxis, der eine Privat-Tierklinik und ein Tierpensionat angeschlossen sind.

An der Klinik für kleine Haustiere der Vet. -med. Fakultät der Freien Universität Berlin bin ich seit dem 1. X. 1963 als Doktorandin tätig.